

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Untersuchungen über den Blut- und Blutplasmaspiegel
von Sulfachlorpyridazin bei Hunden.

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

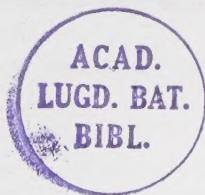
vorgelegt von
Peter Scholz
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1964
Journal-Nr. 476

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Untersuchungen über den Blut- und Blutplasmaspiegel
von Sulfachlorpyridazin bei Hunden.

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin



vorgelegt von
Peter Scholz
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1964
Journal-Nr. 476

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. J. Boch
Referent: Prof. Dr. L. F. Müller
Korreferent: Prof. Dr. H. J. Heidrich

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1964
Tag der Promotion: 17. 12. 1964

Inhaltsverzeichnis

- A. Einleitung
- B. Literaturübersicht
 - I. Sulfachlorpyridazin:
 - 1. Antibakterielle Wirksamkeit
 - 2. Resorption und Exkretion
 - 3. Toxizität
 - 4. Klinische Erfahrungen
 - II. Methodik des Sulfonamidnachweises
- C. Eigene Untersuchungen
 - I. Versuchsmaterial
 - II. Untersuchungsmethode
 - III. Versuchsanordnung und Versuchsergebnisse.
 - 1. Vorversuche:
 - Bestimmung eines geeigneten Filters für Messungen am Zeiss-Photometer Elko II. - Überprüfung der Farbkonstanz von Extinktionslösungen. - Eichkurvenermittlung.
 - 2. Hauptversuche:
 - Blutgehaltsbestimmungen nach einmaliger Applikation. - Blut- und Plasmapbestimmungen nach mehrmaliger Applikation.
 - 3. Nebenversuche:
 - Blutgehaltsbestimmungen nach verschiedenen hohen Dosierungen. - Harngehaltsbestimmungen. - Überdosierungen.
- D. Besprechung der Ergebnisse
- E. Zusammenfassung
- F. Literaturverzeichnis.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung

Mit der Entdeckung des Penicillins und später der Breitbandantibiotika bekam man Heilmittel in die Hand, die ein so großes Wirkungsspektrum und so geringe Nebenwirkungen besaßen, daß die bislang für die Therapie vorhandenen Sulfonamide sehr stark an Bedeutung verloren.

Erst als sich bei wiederholter Anwendung Sensibilisierungen zeigten, als die Antibiotika auf Grund sich bildender Bakterienresistenz versagten, als Kreuzresistenzen auch gegen andere Chemotherapeutika und beim Menschen Darmflora-schädigungen bemerkt wurden, griff man auf die Sulfonamide zurück. Man stellte fest, daß diese teilweise auch da noch wirkten, wo die Antibiotika versagt hatten. Bei ihnen traten Sensibilisierungen und Resistenzbildungen sowie Darmflora-beinträchtigungen sehr viel seltener und langsamer auf. Kreuzresistenzen wurden nicht bemerkt.

Bei der Synthese neuer Sulfonamidderivate stellte man fest, daß bei verschiedenen heterozyklischen Substituenten unterschiedliche Wirkungsintensitäten gegen grampositive und gramnegative Erreger auftraten. Auch zeigten die neuen Verbindungen sich bereits sulfonamidresistenten Keimen gewachsen. Man suchte systematisch aus mehreren tausend Derivaten diejenigen heraus, die günstigere Eigenschaften als die bislang bekannten besaßen. Forderungen wie gute Verträglichkeit, großes antibakterielles Wirkungsspektrum, geringe Blut- und Organkonzentrationen bei guter Heilwirkung, langanhaltende Wirkungsdauer und gute Resorption sowie Ausscheidung konnten weitgehend erfüllt werden.

Das Blut hat Transport- und Verteilungsfunktionen. Aus ihm diffundieren applizierte Pharmaka in die Gewebe. Blutspiegeluntersuchungen stellen ein Maß für die im Körper vorhandene Wirksubstanzmenge dar. Sie sind ein Hilfsmittel, um im zeitlichen Verlauf über Resorption, Verweildauer und, bei gleichzeitigen Harnkonzentrationsbestimmungen, über Ausscheidungsverhältnisse Aufschluß zu geben. Ein direkter Rückschluß auf die Heilwirkung ist jedoch nicht möglich.

In ausreichender Konzentrationshöhe und Einwirkungszeit liegen Voraussetzungen für eine wirksame Sulfonamidtherapie. In der Veterinärmedizin wird eine Blutkonzentration von ca. 5 mg% über 3-4 Tage gefordert (WELSH u. Mitarb. 1946, MACLAY u. SALVIN. 1947, MACSIK 1947, SCHROEDER u. Mitarb. 1948, FLORESTANO u. BAHLER 1952, EGYED u. MILKOWICH 1952, SCHEBITZ 1953).

Diese Arbeit soll ein Beitrag zur Erforschung neuer Sulfonamide sein. Sie soll Auskunft geben über den Konzentrationsverlauf nach Sulfachlorpyridazingaben im Blut und Blutplasma des Hundes und überblicksweise über die Harnausscheidung dieses Stoffes. Auf Grund meiner Beobachtungen sollen dann Dosierungshinweise gegeben werden.

B. Literaturübersicht

I. Sulfachlorpyridazin:

Sulfachlorpyridazin wird von der Ciba A.G. - Basel hergestellt. Es ist unter dem Namen Vetisulid oder Cosulid im Handel und wurde seit 1954 unter der Bezeichnung "Ciba 10'370-Ba" getestet.

Es ist eine kristalline, gelbliche Substanz, die einen Schmelzpunkt von 190-191°C hat und praktisch geschmacklos ist. Als freie Verbindung ist sie leicht in Alkalisalzlösungen (Bicarbonat), als Natriumsalz bei einem pH-Wert von 7,9 bis zu 20% in Wasser löslich (CIBA A.G., Klinische Orientierung 1960). Bei 37°C ist sie im gepufferten Medium im pH-Bereich von 6,5 bis 7 fünfundzwanzigmal besser löslich als Sulfadiazin (ARCHIBALD, 1964).

1. Antibakterielle Wirksamkeit

ARCHIBALD und MCKAY (1964) testeten das Sulfachlorpyridazin im Vergleich mit anderen antibakteriellen Substanzen. Agarplatten, denen 10 % Schafblut zugesetzt war, wurden Chemotherapeutikaplättchen aufgelegt und die Hemmungszonen nach 24-stündigem Bebrüten beurteilt. Dabei fiel eine eindrucksvolle Wirksamkeit gegen E. coli-Stämme auf. Nitrofurazin zeigte eine etwas größere bakteriostatische Wirkung.

Tabelle:

Escherichia coli	Nitrofurazin	Sulfachlorpyridazin	Chloramphenikol	Neomycin	Streptomycin	Tetracyclin
Zahl der Stämme	67	64	49	41	15	13
Prozentuale Wirksamkeit gegen diese Stämme	95,7	91,4	70,0	58,6	21,4	13,5

Wirksamkeit von Sulfachlorpyridazin und einigen Antibiotika gegen Escherichia coli.

MEYER-ROHN und HEIDRICH (1961) führten Reihenverdünnungs-tests durch. Sie benutzten eine Standard 1-Boullion mit Traubenzuckerzusatz (Fa. Merck, Darmstadt) und bebrüteter bei gleichen Einsaatmengen 24 Stunden bei 37°C.

gegen Streptokokken zeigte Sulfachlorpyridazin bei 0,38 mg%, gegen E.coli bei 12,5 mg% eine ausreichende antibakterielle Wirksamkeit, die von keinem der anderen fünfzehn getesteten Sulfonamide übertroffen wurde. Mit einer Hemmkonzentration von 6,25 mg% stand es gegen Staphylokokken an dritter Stelle nach Gantrisin (1,55 mg%) und Globucid (3,12 mg%). Proteus vulgaris und Pseudomonas aeruginosa wurden erst bei 100 mg% gehemmt.

EIPP u. Mitarbeiter (1958) stellten in vitro eine bessere Wirkung gegen grampositive als gegen gramnegative Bakterien fest. Auch sie kehrten den guten Anti-coli-Effekt hervor, der sich an mit tausendfach letaler Dosis infizierten Mäusen bestätigen ließ. Die gute In-vitro-Wirkung gegen Staphylococcus aureus ließ sich an infizierten Mäusen nur mit peroralen Dosen von 250 bis 500 mg/kg Kgw. erzielen. Auch gegen Pneumokokken sah man bei mittleren Dosen keine befriedigenden Ergebnisse. Eine 70%-ige Heilwirkung ließ sich bei peroralen Gaben von 100 mg/kg Kgw. und Tag an mit hämolytischen Streptokokken infizierten Mäusen beobachten. Höhere Dosen brachten keine besseren Erfolge. Bei 10 mg/kg Kgw. und Tag sank die Heilwirkung auf 20 % herab.

ENTCHNICK (1958) beobachtete bei zwei Menschen nach sechsstägiger peroraler Applikation eine Verarmung der Darmflora an E.coli, während Proteus nicht beeinflusst wurde. Er wies darauf hin, daß ein Staphylokokkenübergewicht und damit eine dem "coliformen Ödem ähnliche Krankheit" auftreten könnte.

2. Resorption und Exkretion

Sulfachlorpyridazin zeigt keine protrahierte Wirkung. Schon nach 24 Stunden ließ sich bei subkutanen Gaben von

500 mg/kg Kgw. an Mäusen, die mit Streptokokken infiziert waren, keine ausreichende Heilwirkung mehr erzielen (NEIPP u. Mitarb. 1958).

Aus mehreren Veröffentlichungen wird ersichtlich, daß bei Gaben von 50 bis 100 mg/kg Kgw. nach kurzer Zeit hohe Blutspiegelwerte erreicht wurden, die jedoch schnell wieder abfielen. Zwischen den einzelnen Species sind zu verschiedenen Zeiten verschieden hohe Maxima festgestellt worden.

Tabelle:

Verfasser	Species	Dosis in mg/kg Kgw. po.	Zeitpkt. d. Maxim. in Std.	Maxi- male Konz. in mg%	Konzentrationen nach 12 Std. 24 Std.	
JONES u. FINLAND (1957)	Mensch	50-60 (4g)	3	12-15	6	2,5-3
GOLDHAMMER (1961)	Mensch	40-50 (3g)	3-4	12	5,5	3
NEIPP u. Mitarb. (1958)	Maus	100	1	12,3	1,5	0,5
	Kanin.	100	6	5,9	2,7	1,0
	Hund	100	3	7,0	0,9	0,9
DE FRENNE (1962)	Schwein	100	3	4,7	2,0	0,5
KÖRNER (1962)	Schaf	100 i.m.	0,75	14,5	0,9	0,5
MÜLLING (1963)	Rind	100 i.v.	1	--	nach 5-6 Std.	3-4 mg%
ECKMANN (1963)	Pferd	ca. 50 (30g)	3	6,8	5,5	0,3

Blutspiegelwerte nach Sulfachlorpyridazingaben von 50 bis 100 mg/kg Kgw. vom Menschen und verschiedenen Tierarten.

JONES und PINLAND (1957) bemerkten beim Menschen nach Applikationen von 1 g Sulfachlorpyridazin (etwa 50 mg/kg Kgw. und Tag), die in Intervallen von 6 Stunden erfolgten, eine

vorübergehende Kumulation. In den ersten 4 Tagen stiegen die Blutspiegelwerte an, am siebenten Tag lagen sie bei gleicher Dosierung tiefer als am vierten Tag. Die Maxima traten an den ersten 4 Tagen 2 Stunden nach der Applikation, am siebenten Tag, schon nach 1 Stunde auf. Gleichzeitig wurden ansteigende Acetylierungsgrade gesehen. Die Werte stiegen von 20 % am ersten Tag während der nächsten 3 Tage auf 26 % und am siebenten Tag auf 32 %.

NEIPP u. Mitarbeiter (1958) sahen im Kaninchenblut 30 bis 36 % acetyliertes Sulfachlorpyridazin. Dieselben Autoren berichteten, daß beim Hund im Blutkonzentrationsbereich von 3 bis 6 mg% in den Erythrozyten 70 % der Sulfachlorpyridazinnmenge festgestellt wurde, die man im Blutplasma maß.

JONES u. Mitarbeiter (1957) beschrieben, daß nach einer einmaligen Gabe von 4 g bei einer Blutkonzentration von 12 mg% in den Blutzellen des Menschen wenig oder kein Sulfachlorpyridazin enthalten war. Bei höheren Plasmaspiegeln diffundierten geringe Mengen in die Blutzellen. Den Autoren fielen große individuelle Konzentrationsunterschiede nach Verabfolgung gleichhoher Dosen auf.

GOLDHAMMER (1961) bemerkte beim Menschen, daß die Plasmakonzentration 1,7 mal höher lag als die Vollblutkonzentration.

NEIPP u. Mitarbeiter (1958) untersuchten Organverteilungen nach einmaliger Gabe von 100 mg/kg Kgw. an Mäusen. Die Werte sind als Produkt aus Konzentration und Zeit innerhalb von 48 Stunden errechnet worden. Die Nieren enthielten 100 mg%, das Blut 80 mg%, die Lebern 70 mg%, in Muskeln und Lungen wurden 50 mg% nachgewiesen.

RENTCHNICK (1958) erforschte die Gewebsschrankenpassage beim Menschen:

Tabelle:

Dosis	Std.nach Applikat.	Gesamtsulfonamidkonzentrationen in mg% Plasma: Hydrops Ascit.: Liqu.cerebrospin.		
2 g/Tg.	2	6	1,5	-
	5	7,5	3	-
4 g/Tg.	3	32	7	6
	8	30	-	4

Blutplasmaspiegel und Hydrops Ascites- sowie Liquor cerebrospinalis-Konzentrationen nach Applikation von Sulfachlorpyridazin beim Menschen.

RENTCHNICK zog daraus den Schluß, daß Sulfachlorpyridazin Gewebsschranken gut passiert und bei bakteriellen Meningitiden, Pleuritiden und Peritonitiden zur Therapie herangezogen werden kann.

ARBEITER (1963) untersuchte die Durchlässigkeit der Schweineplazenta für dieses Sulfonamid. Er stellte an 33 Schweinen und 78 Ferkeln fest, daß die diaplazentare Schranke nur in Spuren durchbrochen wird. Die Muttersauen erhielten 1 bis 2 Stunden vor einem Kaiserschnitt Gaben in Höhe von 50, 70 bzw. 100 mg/kg Kgw.

SCHUBERT (1962) verabreichte Muttersauen intramuskulär Sulfachlorpyridazin und stellte einen schnellen Anstieg und Abfall des Sulfonamids in der Milch fest. Eineinhalb Stunden nach der Applikation von 50, 70 bzw. 100 mg/kg Kgw. erreichte er durchschnittliche Maximalwerte von 0,6, 0,9, bzw. 1,2 mg%, die jeweils 16 % der höchsten Blutkonzentrationen ausmachten. Mit höheren Dosen konnten keine höheren Milchspiegel erzeugt werden.

Eine völlige Elimination geben NEIPP u. Mitarbeiter (1958) für Hunde innerhalb von 48 Stunden nach einmaligen Gaben von 100 mg/kg Kgw. an. Nach peroralen Gaben von 4 g/Tag (ca. 50 mg/kg Kgw.) fanden JONES u. Mitarbeiter (1957) beim Menschen schon nach 1 Stunde hohe Harnkonzentrationen. In der Zeit zwischen 3 und 5 Stunden stellten sie eine maximale Exkretion von ca. 370 mg% pro Stunde fest, nach 8 bis 9 Stunden war die Hälfte der Dosis und innerhalb von 24 Stunden waren 86 bis 88 % ausgeschieden. In den nächsten 3 Tagen fand man nur noch 5 % im Urin. 35 bis 75 % des im Urin nachgewiesenen Sulfonamids waren acetyliert. Das gebundene Sulfachlorpyridazin wird 2,5 mal schneller als das freie ausgeschieden. GOLDHAMMER (1961) gab beim Menschen für die absolute Harnausscheidung nach peroralen Gaben von 3 g nach 12 Stunden 58 % und nach 24 Stunden 72 % an. ECKMANN (1963) stellte an Pferden nach intravenöser Verabreichung von 50 mg/kg Kgw. im Harn nach 1 Stunde 924 mg%, nach 6 Stunden 707 mg% und nach 24 Stunden 14 mg% fest. NEIPP u. Mitarbeiter (1958) sowie die Ciba A.G., Klinische Orientierung (1961), untersuchten am Kaninchen die Gallenausscheidung. Sie sahen nach Gaben von 100 mg/kg Kgw. innerhalb von 12 Stunden eine Ausscheidung von 6,3 %. Zwar handelt es sich dabei nur um Bruchteile der Harnkonzentrationen, jedoch sollen diese Mengen schon eine bakterio-statische Wirksamkeit erreichen.

3. Toxizität

NEIPP u. Mitarbeiter (1958) sowie die Ciba A.G. in ihrer Klinischen Orientierung (1960) geben die akute Toxizität folgendermaßen an:

Tabelle:

Tierart	Na-Salz des Sulfonamids, LD 50 in g/kg Kgw.
Kaninchen i.v.	0,55
Kaninchen p.o.	4,50
Maus i.v.	1,10
Maus p.o.	1,50
Maus s.c.	1,50

Halbletale Dosen bei verschiedenen Applikationsarten von Sulfachlorpyridazin für Maus und Kaninchen.

Das Vergiftungsbild wird, wie bei den meisten Sulfonamiden, als symptomarm beschrieben. Bei halbletalen Dosen treten Atemerregung und Unruhe, bei letalen Dosen leichte, unspezifische Lähmungen und Krämpfe der Extremitäten auf. Die Unterschiede zwischen peroralen Gaben und anderer Verabfolgung bei den LD 50-Werten sind in der unterschiedlichen Resorption und damit dem verschiedenartigen Erreichen letaler Blutkonzentrationen gegeben. Bei peroraler Applikation liegen die LD 50-Werte deutlich niedriger als diejenigen von Sulfadiazin, Elkosin und Sulfathiazol. An Ratten, die über 15 Tage täglich 300 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin peroral, und an Kaninchen, die über 10 Tage täglich 500 mg/kg Kgw. des Sulfonamides erhielten, fand man keine pathologisch-anatomischen Veränderungen (NEIPP u. Mitarb. 1958).

AR EITER (1963) applizierte Schweinen 10-20 %-ige Lösungen intramuskulär. Nach Dosen von 50, 70 und 100 mg/kg Kgw. sah

er weder örtliche noch allgemeine Reaktionen. FLÜCKIGER und HOFER (1960) bemerkten keine Zwischenfälle nach intramammärer Applikation von 20 bis 30 ml einer 5-10 %-igen Suspension, jedoch traten bei Schweinen nach intramuskulären Gaben einer 20 %igen Lösung lokale Reizerscheinungen auf. Die Autoren empfehlen subkutane Injektionen körperwarmer Lösungen hinter das Ohr. KÖRNER (1962) beschrieb eine gute Gewebsverträglichkeit 20 %-iger Lösungen bei Schafen. Er verabreichte 50 bis 100 mg/kg Kgw. intramuskulär. ARCHIBALD (1964) stellte keine Nebenwirkungen nach Gaben von 1 bis 6 g/Tag, über 4 bis 6 Tage lang verabreicht, bei Kälbern, Lämmern und Hunden fest. ECKMANN (1963) sah bei Pferden nach Dosen von 25 und 50 mg/kg Kgw. keine einheitlichen Veränderungen des Blutbildes und des Harnstatus.

JONES u. Mitarbeiter (1957) sowie JONES und FINLAND (1957) wiesen darauf hin, daß beim Menschen bei Dosen, mit denen man ausreichende Blutspiegel erreicht, Kristallurien und Harntraktschädigungen auftreten könnten. GOLDHAMMER (1961) sah innerhalb von 4 Jahren an über 300 Patienten nach Verabreichung bis zu 3,5 g/Tag keine Nebenwirkungen.

RENTCHNICK (1958) beobachtete nach Verabfolgung von 50 mg/kg Kgw. pro Tag an gesunden Menschen eine gesteigerte Diurese und fand vermehrte Ausscheidung von Natrium, Kalium und Chlor. Bei Patienten mit veränderter Wasserausscheidung wurde jedoch keine einheitliche Erhöhung der Diurese beobachtet. Alte Patienten zeigten leichte geistige Verwirrung, die sofort nach Absetzen des Präparates verschwand. Ferner fiel ihm eine geringgradige Tendenz zu Anämien und Leukopenien auf.

4. Klinische Erfahrungen

GOLDHAMMER (1961) sah bei Koliinfektionen der Harnwege des Menschen in mehr als 200 Fällen gute und bei Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* sowie *Proteus vulgaris* in

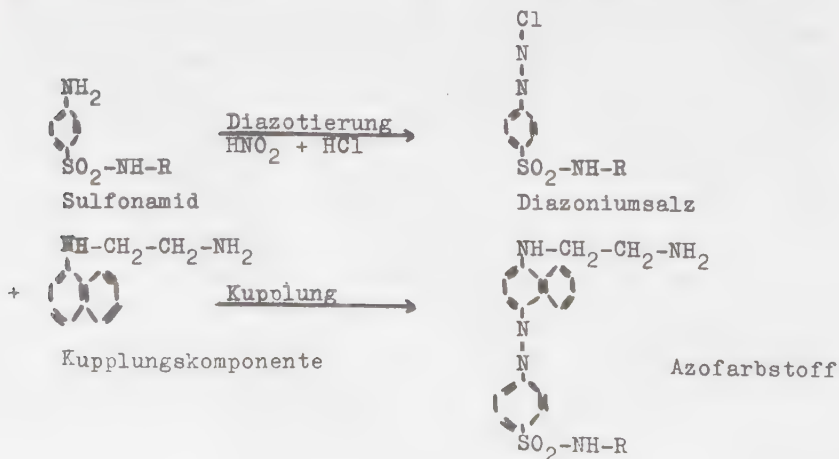
9 Fällen keine Heilwirkungen. RENTSCHNICK (1958) berichtet von 2 Fällen, in denen er bei Infektion der Harnwege mit *E. coli* nach täglichen Gaben von 3 g in 2 bis 3 Teildosen nach kurzer Zeit Heilung erreichte. Eine vorher durchgeführte Therapie mit einigen Antibiotika und Furadantin hatte keinen Erfolg gezeigt. FLÜCKIGER und HOFER (1960) berichteten von guten Heilerfolgen nach intramammären Gaben von 20 bis 40 ml der 5 %-igen Suspension bei Mastitiden des Rindes. Gute Erfolge erzielten sie auch nach intravenösen Gaben von 150 bis 200 ml der 20 %-igen Lösung bei Paratuberkulose, Bursitis, Panaritien, Metritiden, Katarrhalfieber und Nephritiden, nicht bei Meningitiden der Rinder. GLÄTTLI (1961) sah innerhalb von 2 Jahren ausgezeichnete Erfolge bei akuten Streptokokken- und Koli-mastitiden nach intramammärer Applikation von 20 bis 40 ml einer 5 oder 10 %-igen Suspension pro Euterviertel. Bei gleichzeitigen fieberhaften Allgemeinerkrankungen verabreichte er Sulfachlorpyridazin intravenös, wobei bereits nach 12 bis 24 Stunden ein Temperaturabfall und Abklingen der akuten Erscheinungen auftrat. In der schnellen Ausscheidung dieses Präparates sah er wirtschaftliche Vorteile. Bei chronischen Mastitiden erreichte er nach mehrmaliger Instillation nach dem Trockenstellen Heilung oder Besserung. MÜLLING (1963) erzielte bei Enteritiden verschiedener Genese an Kälbern mit ein- oder mehrmaligen oralen Gaben von 100 mg/kg Kgw. gute Erfolge. ARCHIBALD (1964) beschrieb in Herden, in denen immer wieder Kolibazillose auftraten, bei Kälbern und Lämmern ermutigende Heilerfolge nach Gaben von 1 bis 6 g/Tag (wenigstens 40 mg/kg Kgw. pro Tag) 4 bis 7 Tage lang. Frühere Therapieversuche mit Antibiotika und anderen Chemotherapeutika führten zu keinem Erfolg. Entzündungen des Urogenitalsystems bei Runden, die sich auf Infektionen mit *E. coli*, Streptokokken und Staphylokokken zurückführen ließen, wurden nach Gaben von 1 bis 4 g /Tag über 4 bis 7 Tage unter Kontrolle gebracht, nachdem sie erfolglos mit Antibiotika und anderen Sulfonamiden sowie Nitrofurazin vorbehandelt waren.

II. Methodik des Sulfonamidnachweises

MARSHALL (1937) beschrieb eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Sulfanilamid in Blut, Urin und anderen Körperflüssigkeiten. Diese beruht auf der Diazotierung der kernständigen primären Aminogruppe des Sulfanilamids mit Natriumnitrit in leicht salzsaurem Milieu. Mit Hilfe der Kupplungskomponente Dimethyl-4-naphthylamin wird das entstandene Diazoniumchlorid in einen purpurroten Azofarbstoff überführt, der dann photometrisch gemessen werden kann.

1939 erreichten **BRATTON** und **MARSHALL** nach Prüfung einer Reihe von Stoffen mit N-(1-Naphtyl)-Aethylendiamindihydrochlorid als Kupplungskomponente eine empfindlichere und schnellere Kupplungsreaktion als mit Dimethyl-4-naphthylamin, sowie eine bessere, ohne Puffergemisch verlaufende Säurelöslichkeit des Azofarbstoffes. Ferner stellten sie fest, daß auch andere Sulfonamidderivate in Farbstoffe überführt werden können, wenn sie eine freie ringständige Aminogruppe haben, oder eine gebundene durch Hydrolyse freigesetzt werden kann, wobei jedoch auf die Löslichkeit des entstandenen Farbstoffes zu achten ist.

Die chemische Umsetzung geht aus folgender Formel hervor:



KREBS und FRANKE (1939), sowie NIEMAND (1943) wiesen darauf hin, daß diese Nachweismethode keineswegs spezifisch für Sulfonamide ist, sondern auch andere Stoffe mit aromatischen Aminogruppen wie z.B. Trypaflavin, Rivanol oder die Lokalanaesthetika Anaesthesin, Novocain, Tutocain, oder nach Hydrolyse Mittel wie Phenazetin und Atebrin in Farbstoffe überführt, und somit zu Fehlergebnissen führen können.

Neben BRATTON und MARSHALL (1939) wurde die Methode von DRUEY und OESTERHELD (1942), PADOWETZ u. Mitarbeiter (1961) u.a. modifiziert. PADOWETZ u. Mitarbeiter (1961) sowie SCHMID u. Mitarbeiter (1961) führten vergleichend radiochemische Untersuchungen mit ^{35}S - markiertem Sulfaphenazol durch und stellten fest, daß zwischen beiden Methoden bei Blut- und Plasmakonzentrationsbestimmungen weitgehend Übereinstimmung der Resultate bestehen. Die kolorimetrisch gemessenen Werte liegen jedoch etwas niedriger, da bei der Eiweißfällung adsorptiv gebundenes Sulfonamid verloren geht. PADOWETZ u. Mitarbeiter (1961) empfahlen die Anwendung von Korrekturfaktoren.

HACKMANN (1947) entwickelte aus der von MARSHALL (1937) beschriebenen Reaktion eine qualitative Schnellmethode, indem er die Reagentien in einen Papierstreifen brachte und diesen in Anwesenheit von 0,2-0,5 %-iger Salzsäure mit der zu untersuchenden Flüssigkeit reagieren ließ. Bei Konzentrationen von mehr als 2 bis 5 mg% trat Rotfärbung auf.

Ein prinzipiell anderes Verfahren, mit jedoch geringerer Empfindlichkeit zur Bestimmung von Sulfonamiden mit freier Aminogruppe, erreichte KÜHNAU (1938) durch Umsetzung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd zu einem gelben Farbstoff, der ebenfalls kolorimetrisch gemessen wird.

Photometrische Konzentrationsbestimmungen beruhen auf der Tatsache, daß sich eine Substanz quantitativ in einen löslichen Farbstoff überführen läßt. Mißt man die Farbintensität

mit Hilfe eines Photometers, so erhält man für die meisten Stoffe, so auch in unteren Konzentrationsbereichen für die Sulfonamide, eine proportionale Abhängigkeit zwischen Konzentrationen und Extinktionen (LAMBERT-BEERSCHES Gesetz). Um die konstante Abhängigkeit zwischen diesen beiden Größen zu erkennen, stellt man eine Eichkurve auf, indem man von bekannten Konzentrationen die Extinktionen ermittelt. Man kann somit über Farbintensitätsmessungen die Konzentrationen eines Stoffes bestimmen.

C. Eigene Untersuchungen

I. Versuchsmaterial

Die Versuche wurden an 11 klinisch gesunden Hunden durchgeführt. Die Tiere wurden 2 bis 4 mal in den Versuch genommen, wobei der Zeitraum zwischen den Versuchen mindestens 3 Wochen betrug.

Tabelle 1:

Nr.	Rasse	Alter in J.	Geschlecht	Gewicht in kg	Anzahl d.Vers.
1	SH	5	weibl.	23,8	2
2	SH-Bastard	4	weibl.	21,2	3
3	SH	9	weibl.	36,6	2
4	SH	3	weibl.	24,5	2
5	SH-Bastard	5	männl.	25,5	2
6	SH-Bastard	4	weibl.	20,6	4
7	SH-Bastard	4	männl.	31,0	3
8	SH-Bastard	4	männl.	28,6	3
9	SH-Bastard	9	männl.	21,9	2
10	SH-Bastard	4	männl.	28,7	3
11	SH-Bastard	4	männl.	31,7	3

Versuchshunde:

Die Hunde Nr. 3 und Nr. 9 sind die Eltern der Tiere Nr. 2, 6, 7, 8, 10, 11.

II. Untersuchungsmethode

Zur Bestimmung der Sulfonamidkonzentrationen im Blut, Blutplasma und Harn wurde die von PADOWETZ, SCHMID und DRUEY (1961) modifizierte Methode nach BRATTON und MARSHALL (1939) herangezogen.

Beschreibung der Methode:

In 5 ml Aqua dest. wird 1 ml mit Heparin-Natrium ungerinnbar gemachtes Blut hämolysiert. Man mischt durch und fällt das Bluteiweiß mit 10 ml eines Trichloressig-Salzsäuregemisches. Nach gutem Durchschütteln und kurzem Stehenlassen trennt man mit Hilfe eines trockenen Filterpapiers die Fällungsprodukte ab. Das Filtrat muß absolut klar sein, ist dies nicht der Fall, so muß nochmals filtriert werden. 5 ml des Filtrats werden in ein 10 ml fassendes Meßkölbchen pipettiert und mit 1 ml einer 0,1 %-igen Natriumnitrit-Lösung versetzt. Nach kräftigem Schütteln und 5 Minuten langem Stehenlassen wird 1 ml einer 0,5 %-igen Sulfaminsäurelösung hinzugefügt, um überschüssiges Nitrit zu zerstören. Es entsteht Stickstoff, der beim Umschütteln aus der Flüssigkeit herausperlt. Nach einer Minute setzt man 1 ml der 0,1 %-igen Kupplungskomponentenlösung α -Naphthyläthylendiamindihydrochlorid zu. Es entsteht ein rotvioletter Azofarbstoff. Man schüttelt um und nach 10 Minuten wird das Meßkölbchen bis auf 10 ml mit absolutem Äthylalkohol aufgefüllt. Der Äthylalkohol muß in jedem Verhältnis mit destilliertem Wasser mischbar sein, ohne daß Trübungen auftreten. Nach gutem Durchmischen ist die Farblösung zur photometrischen Messung fertiggestellt.

Um Sulfonamidkonzentrationen im Blutplasma zu messen, wird ungerinnbar gemachtes Blut 10 Minuten lang zentrifugiert. Mit 1 ml Plasma wird dann genau wie mit 1 ml Blut in oben beschriebener Weise der Untersuchungsgang durchgeführt.

Im Harn treten nach Sulfachlorpyridazinapplikation sehr hohe Konzentrationen auf. Da ihre Farbintensitäten außerhalb normaler photometrischer Meßbereiche liegen, verdünnt man den Harn je nach Konzentration mit destilliertem Wasser

im Bereich von 1:10 bis 1:200 (zu 1 ml Harn 9 ml bzw. 199 ml Aqua dest.). 1 ml verdünnter Harn dient dann genau wie bei Vollblut- oder Plasmakonzentrationsmessungen als Ausgangsmaterial zur Diazotierung und Kupplung zum Azofarbstoff.

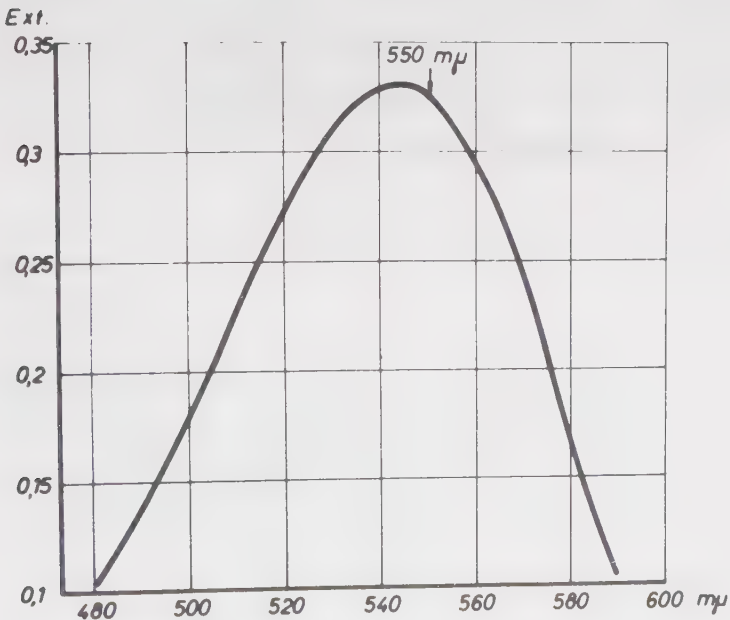
Das täglich angesetzte Säuregemisch bestand aus 20 ml einer 10 %-igen Trichloressigsäure und 100 ml einer 1n-Salzsäure. Natriumnitrit-, Sulfaminsäure- und Kupplungskomponentenlösung wurden wöchentlich frisch mit Aqua dest. angesetzt und nachts im Kühlschrank aufbewahrt, jedoch nur nach Erwärmung auf Zimmertemperatur verwendet. Eine dunkle Flasche schützte die Kupplungskomponentenlösung vor Lichteinwirkungen.

Die photometrischen Messungen wurden am Zeiss-Photometer Elko II mit dem Filter S 55 E, das einer Wellenlänge von 550 m μ entspricht, bei Zimmertemperatur durchgeführt. Dabei fanden Küvetten der Schichtdicke 1 Verwendung. Bei hohen Konzentrationen im Bereich von Extinktion 1,0 und darüber wurde auf Küvetten mit der Schichtdicke 0,5 zurückgegriffen und der so ermittelte Extinktionswert verdoppelt. Alle Proben wurden gegen Aqua dest. als Leerwert gemessen. Extinktionswerte von Harnproben wurden mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor multipliziert.

III. Versuchsanordnung und Versuchsergebnisse

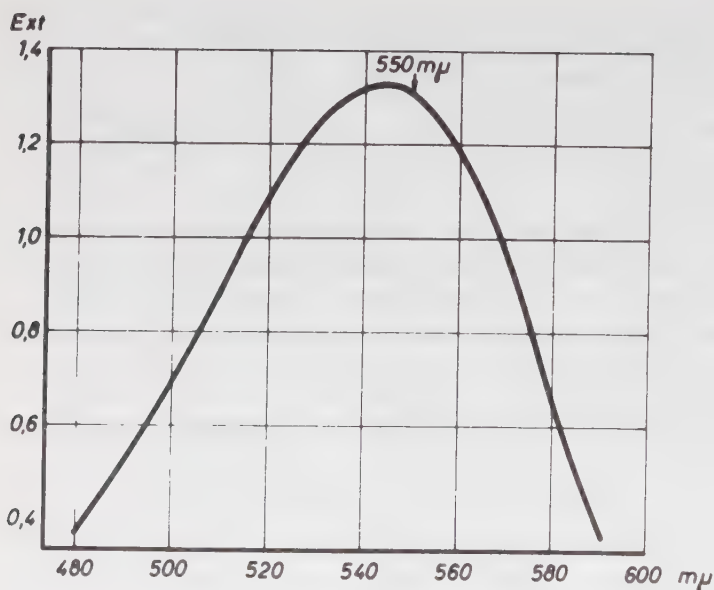
1. Vorversuche

Um die Wellenlänge für die photometrischen Messungen zu ermitteln, bei der eine optimale Absorption von Sulfachlorpyridazin-Extinktionslösungen auftritt, wurden mit dem Zeiss-Spektralphotometer PMQ₂ Absorptionskurven einer 5 mg%-igen und einer 20 mg%-igen Farblösung aufgenommen (Abb. 1). Da die maximale Absorption bei ungefähr 545 m μ liegt, wurde das dieser Wellenlänge am nächsten liegende Zeiss-Filter S 55 E ausgewählt.



A B B. 1a

Absorptionskurve einer 5 mg%-igen Extinktionslösung.

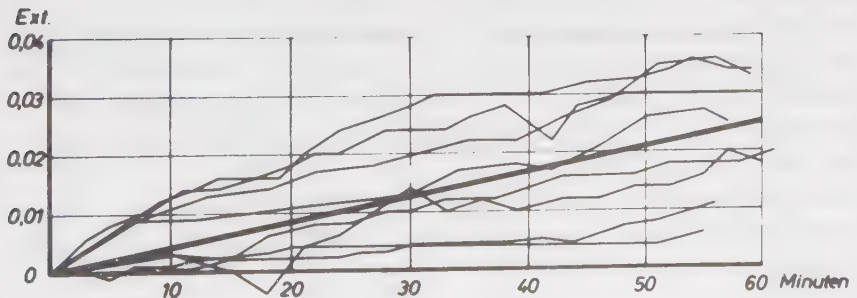


A B B. 1b

Absorptionskurve einer 20 mg%-igen Extinktionslösung.

Bei den ersten Extinktionsmessungen zur Eichkurvenaufstellung wurde nach vorschriftsmäßiger Herstellung der Farblösungen bei wiederholter Messung eine Farbkonstanz festgestellt. Es hatte den Anschein, daß durch 3 bis 5 Minuten langes Schütteln nach der Alkoholzugabe eine bessere Lösung des Azofarbstoffes und somit eine etwas größere Farbkonstanz erreicht werden konnte. Um zu klären, ob es sich bei den auftretenden Veränderungen um zufällige oder wesentliche Abweichungen handelte, wurden jeweils zwei Proben einer 5, 10, 15 und 20 mg%-igen Sulfachlorpyridazinlösung diazotiert und gekuppelt; ihre Farblösungen wurden nach Alkoholzugabe

3 bis 5 Minuten geschüttelt und dann über 60 Minuten photometrisch gemessen. Das Ergebnis waren Erhöhungen der Extinktionswerte bei allen 3 Proben (Abb. 2). Einheitliche, von der jeweiligen Konzentrationshöhe abhängige Abweichungen wurden nicht bemerkt. Eventuelle Veränderungen dieser Art sind bei den folgenden Betrachtungen nicht berücksichtigt worden. Aus der Punkteschar aller innerhalb 1 Stunde gemessenen Extinktionsveränderungen (147 Werte) wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate (WEBER, 1961) die bestmögliche Gerade errechnet. Blieben die Extinktionen konstant, so müßte sich die Steigung der Geraden von der Abszisse nur zufällig unterscheiden, was jedoch bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% nicht der Fall ist. Die Zunahme der absoluten Extinktionsdifferenzen innerhalb einer Stunde ist also nicht zufällig, sondern signifikant. Die berechnete Regressionsgerade hat einen Steigungswinkel von $\text{tg} \alpha = 0,000427$.



A B B. 2

Absolute Extinktionsdifferenzen fertiggestellter Farblösungen und deren Regressionsgerade.

Im Verlauf der Arbeit erfolgten alle Messungen innerhalb der ersten 15 Minuten nach Fertigstellung der Extinktionslösungen. In diesem Zeitraum tritt höchstens ein mittlerer systematischer Fehler von Extinktion 0,0064 auf, der 0,01 mg% entspricht, sehr klein ist und deshalb vernachlässigt werden kann.

Aus 4 unabhängig voneinander angesetzten Stammlösungen wurden insgesamt 10 Verdünnungsreihen mit jeweils 12 Konzentrationen zwischen 1 und 20 mg% hergestellt. Bei der Stammlösungsbereitung wurden 0,2 g Sulfachlorpyridazinreinsubstanz in gesättigter Bikarbonatlösung gelöst und bis zum Volumen von 1 000 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Daraus sind die Verdünnungen von 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 16 und 20 mg% hergestellt worden. Zu 1 ml jeder Verdünnung wurden dann jeweils 5 ml Aqua dest., 10 ml Säuregemisch, Natriumnitrit, Sulfaminsäure usw. zugegeben.

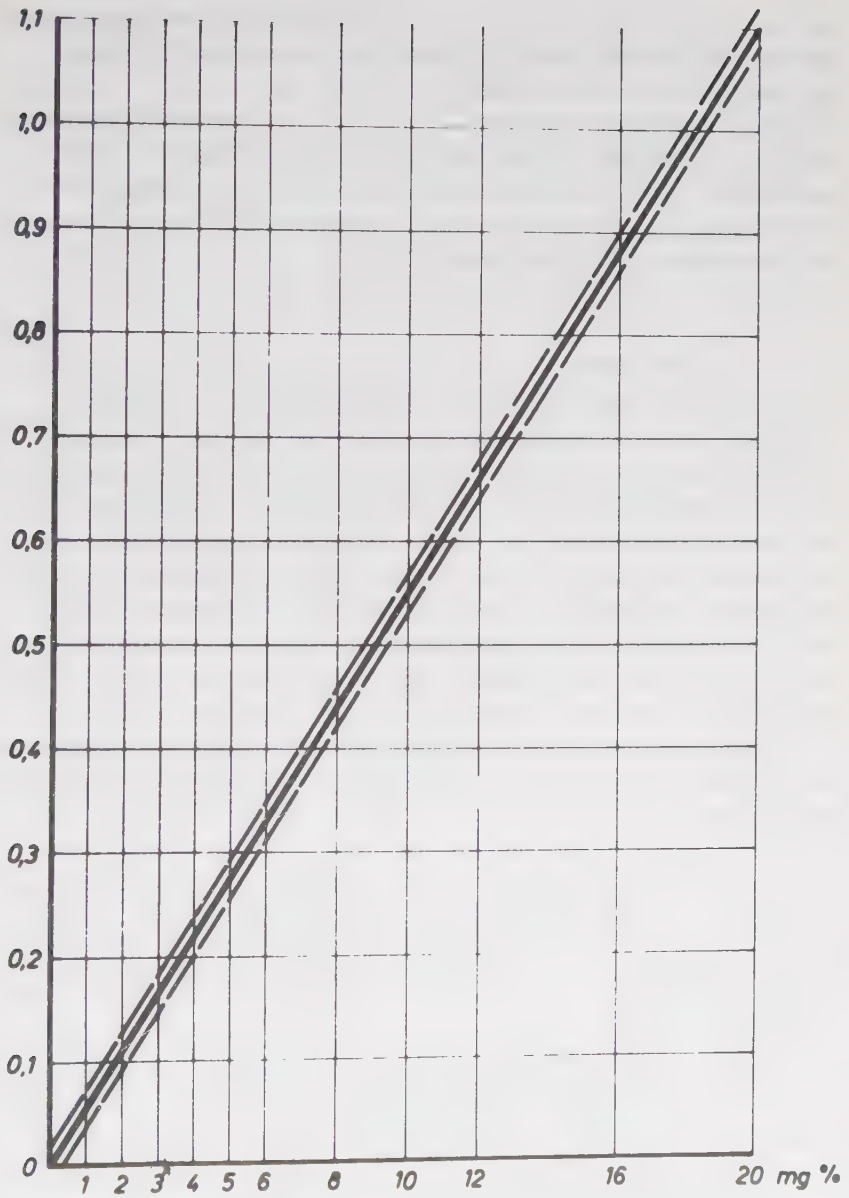
120 Werte aus den 10 Verdünnungsreihen stellen das Ausgangsmaterial zur Berechnung der Eichkurve dar. Nach der Methode der kleinsten Quadrate wurde aus den Mittelwerten der einzelnen Konzentrationen die Eichgerade unter der Voraussetzung, daß sie durch den Koordinatenursprung geht, errechnet. Sie läßt sich mathematisch als $y = 0,055 x$ ausdrücken (Abb. 3).

Unter der Annahme, daß sich die Einzelstreuungen nicht zu stark unterscheiden, wurde für die Eichgerade eine gemeinsame Streuung nach der Formel

$$s_{yx}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1} = \frac{1}{n - 1} \left[\sum_{i=1}^n y_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i y_i)^2}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \right]$$

berechnet (WEBER, 1961). Die Wurzel aus der Streuung, die Standardabweichung, ergab einen Wert von 0,0173.

Ext.



Mit der Wahrscheinlichkeit von 95 % wird kein Wert auftreten, der um mehr als $\pm 0,034$, das entspricht 0,5 mg%, von der Eichkurve abweicht.

Es wurde angenommen, daß die Eichkurve bei Konzentrationen über 20 mg% weiter linear verläuft. Alle in dieser Arbeit angegebenen Konzentrationen sind mit Hilfe der Eichgeraden errechnet worden. Dabei wurden die Extinktionswerte durch den Eichfaktor 0,055 dividiert.

2. Hauptversuche

Nach peroraler und subkutaner Applikation von Sulfachlorpyridazin wurden Konzentrationsmessungen im Blut, zum Teil im Blutplasma und im Harn vorgenommen. Das Präparat wurde in Form von Tabletten bzw. der 20 %-igen Injektionslösung verwendet. Blut wurde aus der Vena cephalica antebrachii entnommen, der Harn durch Katheterisieren gewonnen. Vor Versuchsbeginn entnommene und auf eventuelle Farbentwicklung geprüfte Blutproben zeigten geringe Intensitäten, sogen. Leerwerte an. Diese sind, in Konzentrationsangaben enthaltenen Tabellen, unter dem Zeitwert 0 Stunden angegeben. Sie stellen bei den meisten Tieren ein etwas unterschiedliches Nullniveau dar und wurden nicht von den Sulfonamidkonzentrationsangaben abgezogen.

Erster Hauptversuch:

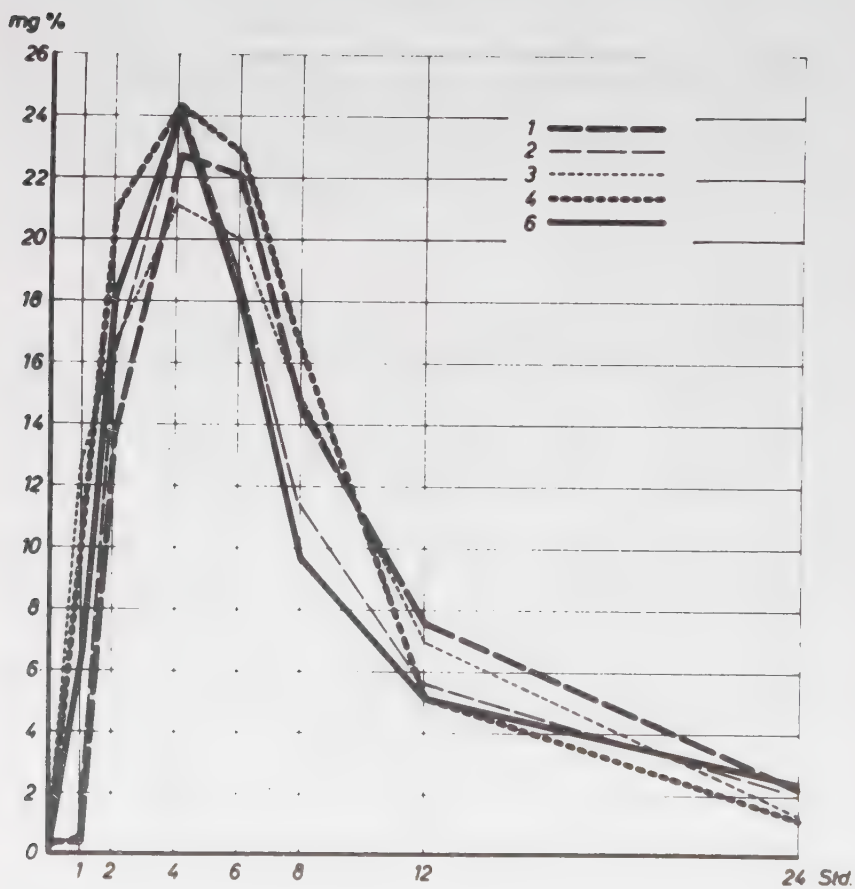
10 Hunde erhielten nüchtern je 150 mg Sulfachlorpyridazin pro kg Kgw. peroral verabreicht. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 und in den Abbildungen 4 und 5 graphisch dargestellt worden.

Aus den Mittelwerten dieses Versuches ergibt sich, daß nach einer Stunde 8,5 mg% erreicht wurden, nach 4 Stunden ein Maximum von 9,3 mg% auftrat und über 12 Stunden eine Konzentration von 5,4 mg% aufrechterhalten wurde. Somit wurde bei peroralen Gaben von 150 mg/kg ein geforderter Mindestblutspiegel von 5 mg% nach einer Stunde erreicht und nach 12 Stunden noch nicht unterschritten.

Tabelle 2:

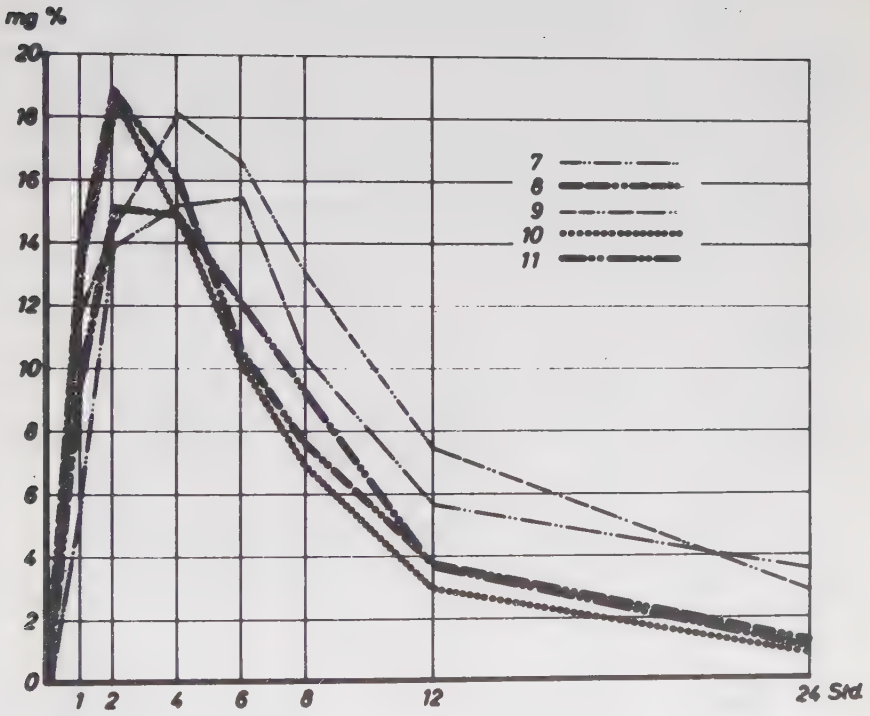
Nr. der Vers.Hd.	Stunden:							
	0	1	2	4	6	8	12	24
1	0,4	0,4	11,6	22,7	21,1	15,5	7,5	2,2
2	0,3	0,6	16,2	24,2	18,7	11,4	5,6	2,1
3	0,3	12,7	16,5	21,1	20,1	14,9	7,0	1,4
4	0,5	10,9	21,0	24,4	22,8	16,1	5,2	1,2
6	0,3	6,6	18,0	24,2	18,1	9,7	5,1	2,3
7	0,4	5,9	11,8	13,2	13,4	10,4	5,7	3,6
8	0,3	14,0	18,8	16,0	10,5	7,5	3,7	1,2
9	0,5	1,9	14,3	18,0	16,5	13,2	7,5	2,9
10	0,3	13,0	18,6	14,8	10,3	6,9	3,0	0,8
11	0,3	9,4	15,1	14,9	11,9	9,2	3,7	1,0
$\bar{x}_j$	0,36	8,54	16,19	19,35	16,34	11,53	5,40	1,87
s_{xj}	$\pm 0,08$	$\pm 5,2$	$\pm 3,1$	$\pm 4,5$	$\pm 4,6$	$\pm 3,4$	$\pm 1,6$	$\pm 0,9$

Blutkonzentrationen nach einmaliger peroraler Gabe von
150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin.



A B B. 4

5 Hunde, je Tier 150 mg/kg Kgw. p.o.



A B B. 5

5 Hunde, je Tier 150 mg/kg Kgw. p.o.

Zweiter Hauptversuch:

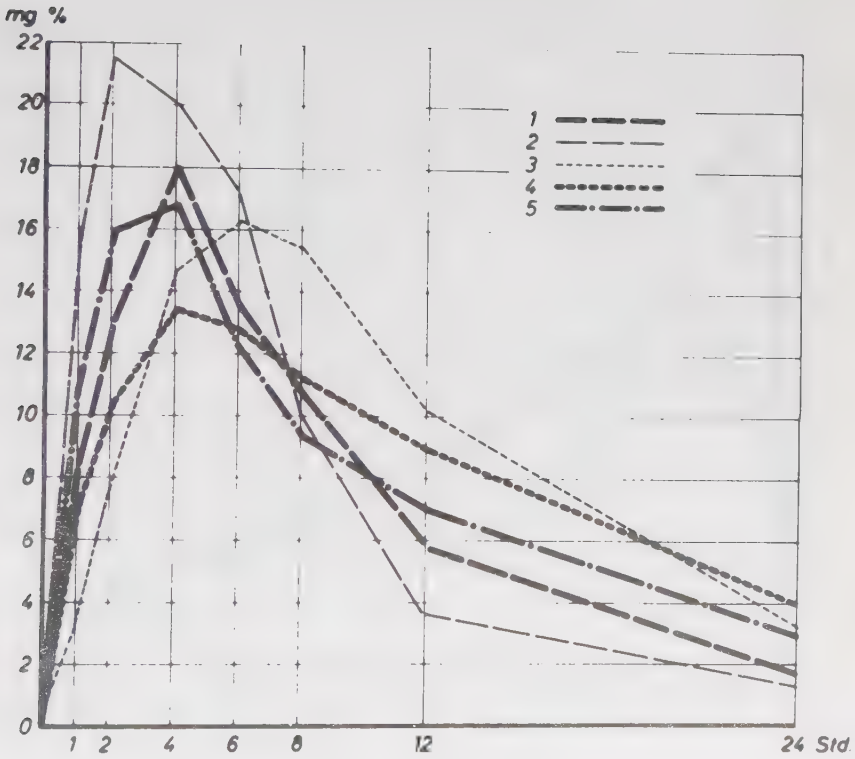
10 Hunden wurden je 150 mg Sulfachlorpyridazin pro kg Kgw. subkutan injiziert. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 und in den Abbildungen 6 und 7 graphisch dargestellt.

Aus den Durchschnittswerten des 2. Hauptversuches ist zu ersehen, daß der angenommene therapeutische Blutspiegel von 5 mg% nach 1 Stunde mit 9,4 mg% überschritten, und nach 12 Stunden mit 6,5 mg% noch gut aufrechterhalten wurde. Ein Maximum ließ sich ebenfalls nach 4 Stunden mit 14,7 mg% feststellen.

Tabelle 3:

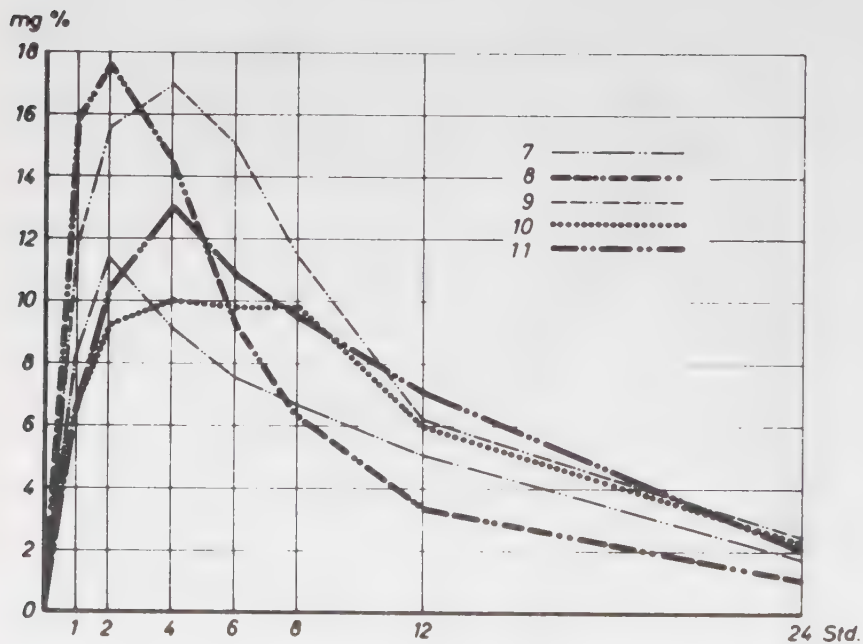
Nr. der Vers.Hd.	Stunden:							
	0	1	2	4	6	8	12	24
1	0,3	8,4	13,0	18,0	13,6	10,8	5,8	1,7
2	0,6	15,5	21,5	20,1	15,2	10,1	3,8	1,3
3	0,5	3,4	7,6	14,7	16,3	19,5	10,3	3,3
4	0,4	6,9	10,3	13,4	12,8	11,2	8,9	4,0
5	0,8	11,1	15,9	16,8	12,2	9,4	7,0	2,9
7	0,4	8,2	11,4	9,2	7,6	6,7	5,1	1,8
8	0,3	15,8	17,6	14,4	9,3	6,3	3,4	1,1
9	0,3	11,9	15,6	17,0	15,0	11,4	6,2	2,5
10	0,3	6,7	9,2	10,0	9,8	9,8	7,0	2,3
11	0,3	6,5	10,4	12,0	10,9	9,5	7,1	2,1
$\bar{x}_j$	0,42	9,44	13,25	14,66	12,27	10,07	6,46	2,30
s_{xj}	$\pm 0,2$	$\pm 4,1$	$\pm 4,3$	$\pm 3,4$	$\pm 2,9$	$\pm 2,6$	$\pm 2,1$	$\pm 0,9$

Blutkonzentrationen nach einmaliger subkutaner Gabe von 150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin.



A B B. 6

5 Hunde, je Tier 150 mg/kg K₀W. s.c.



A B B: 7

5 Hunde, je Tier 150 mg/kg Kgw. s.c.

Dritter Hauptversuch:

Um einen therapeutisch wirksamen Blutspiegel über längere Zeit aufrecht zu erhalten, wurden an 3 Hunden über 3 Tage bei peroraler Applikation Nachdosierungsversuche durchgeführt.

Bei einer Initialdosis von 150 mg Sulfachlorpyridazin pro kg Kgw. und alle 12 Stunden erfolgreicher Nachdosierung von 100 mg/kg Kgw. wurden jeden Tag nach 4, 12, 16 und 24 Stunden die Blut- und Plasmakonzentrationen bestimmt, sowie vor, während und nach den Versuchen Blut- und Harnuntersuchungen angestellt.

Die mit Versuchstier Nr. 7 ermittelten Ergebnisse sind in den Tabellen 4 und 5 sowie in Abbildung 8 graphisch, die des Hundes Nr. 10 in den Tabellen 6 und 7 und Abbildung 9 und die des Hundes Nr. 11 in den Tabellen 8 und 9 sowie Abbildung 10 aufgezeichnet.

Dieser Versuch zeigte, daß bei einer alle 12 Stunden erfolgenden Dosierung von insgesamt 250 mg/kg am ersten Tag und 200 mg/kg am zweiten und am dritten Tag, fast immer der angenommene therapeutische Blutspiegel von 5 mg% aufrechterhalten werden konnte, oft sanken die Werte nicht so weit ab. Gleichzeitig wurden neben den Vollblutwerten Plasmakonzentrationen bestimmt. An Hand von 36 Messungen wurde festgestellt, daß die Plasmakonzentrationen um $1,65 \pm 0,12$ mal höher liegen als die Vollblutwerte.

Tabelle 4:

Tage	Stunden	Dosierung in mg/kg Kgw.	Blutkonzentrationen	Plasmakonzentrationen
1.Tag	0	150	0,4	0,3
	4	---	14,9	23,2
	12	100	10,0	15,5
	16	---	18,3	28,2
	24	100	5,2	9,4
2.Tag	4	---	14,4	24,6
	12	100	9,4	15,5
	16	---	18,0	26,4
	24	100	3,6	5,5
3.Tag	4	---	9,5	14,6
	12	100	7,6	12,7
	16	---	18,6	26,7
	24	---	4,6	7,3

Versuchsband Nr.7:

Blut- und Plasmakonzentrationen nach peroraler Gabe einer Initialdosis von 150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin und alle 12 Stunden erfolgreicher Nachdosierung von 100 mg/kg über 3 Tage.

Tabelle 5:

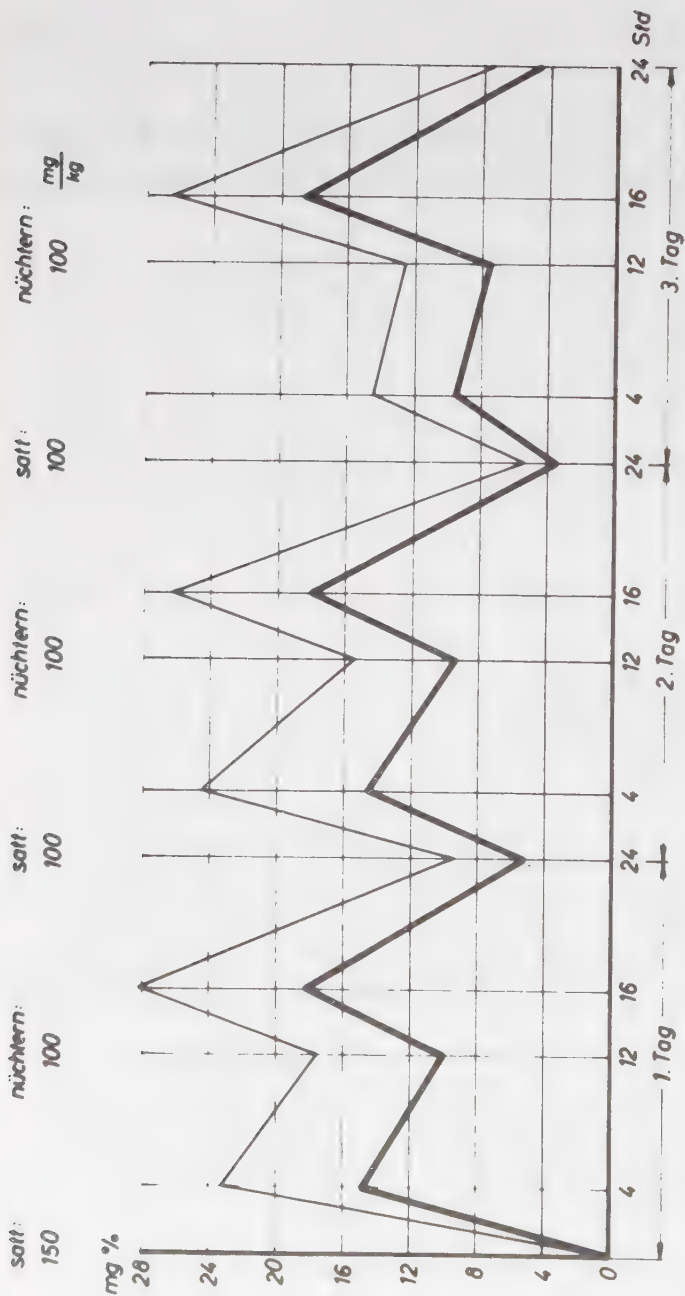
	36 Std. vor Versuchsbeginn	40 Std. nach Versuchsbeginn	12 Std. nach Versuchsende
Blut:			
Haemoglobin (in g %)	19,0	20,0	20,6
Erythrozyten (in Mill./cmm)	5,58	6,20	5,73
Leukozyten (in 1000/cmm)	8600	4800	8500
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	0/1/3	0/0/5	0/0/1
Haematokrit (in Vol.%)	57+0,8	60+0,5	66+0,8
Harn:	o.B.	o.B.	o.B.

Versuchshund Nr.7:

Blut- und Harnuntersuchungen vor, während und nach dem
3. Hauptversuch.

Bei den Blutuntersuchungen wurde das Haemoglobin mit der Cyanhaemoglobin-Methode photometrisch bestimmt, Leukozyten und Erythrozyten in der Kammer nach NEUBAUER gezählt, die Blutsenkungsgeschwindigkeit nach WESTERGREN nach 1/2/24 Stunden abgelesen, der Haematokrit in Volumen- % nach WINTROBE angegeben.

Bei den Harnbeurteilungen wurde qualitativ mit der Biuretreaktion auf Eiweiß, der Nylanderprobe auf Zucker und der Probe nach GMELIN auf Bilirubin untersucht. Zur Harnstoffbestimmung wurde die Urastrat-Papierchromatographie herangezogen, die Retikulozytenzählung sowie die Untersuchung auf Heinz'sche Innenkörperchen wurde an brillantkresylblau gefärbten Blutaussstrichen durchgeführt.



A B B. 8 Versuchshund Nr. 7

Blut- und Plasmakonzentrationsverlauf nach wiederholter peroraler Applikation.

Blut: — Plasma: —

Tabelle 6:

Tage	Stunden	Dosierung in mg/kg Kgw.	Blutkonzentrationen	Plasmakonzentrationen
1.Tag	0	150	0,4	0,4
	4	---	1,3	2,6
	12	100	16,8	28,4
	16	---	21,5	34,0
	24	100	11,9	21,6
2.Tag	4	---	16,8	29,6
	12	100	7,4	12,7
	16	---	11,7	16,2
	24	100	8,8	14,0
3.Tag	4	---	22,8	33,4
	12	100	17,4	25,7
	16	---	25,3	36,4
	24	---	14,2	22,7

Versuchshund Nr. 10:

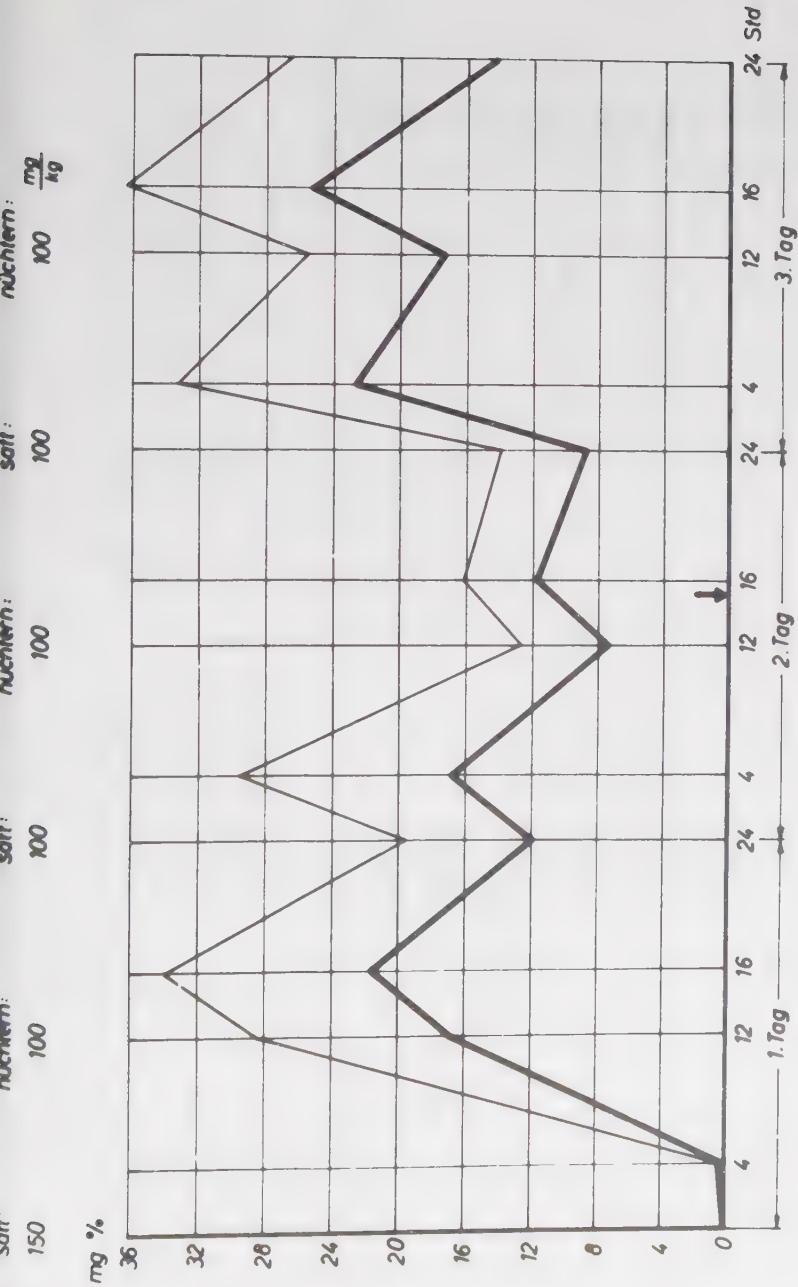
Blut- und Plasmakonzentrationen nach peroraler Gabe einer Initialdosis von 150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin und alle 12 Stunden erfolgender Nachdosierung von 100 mg/kg über 3 Tage.

Tabelle 7:

	36 Std. vor Versuchsbeginn	40 Std. nach Versuchsbeginn	12 Std. nach Versuchsende
Blut:			
Haemoglobin (in g %)	18,7	19,6	20,6
Erythrozyten (in Mill./cmm)	5,43	5,84	6,06
Leukozyten (in 1000/cmm)	7100	7400	6500
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	0/1/4	0/1/6	0/0/2
Haematokrit (in Vol.%)	61+0,6	60+0,6	64+0,7
Harn:	o.B.	o.B.	o.B.
	Im Sediment sind massenhaft Sulfonamid- kristalle ausgefallen.		

Versuchshund Nr. 10:

Blut- und Harnuntersuchungen vor, während und nach dem
3. Hauptversuch.



A B B. 9 Versuchshund Nr. 10

Blut- und Plasmakonzentrationsverlauf nach wiederholter peroraler Applikation.

Blut: — Plasma: —

Tabelle 8:

Tage	Stunden	Dosierung in mg/kg Kgw.	Blutkonzentrationen	Plasmakonzentrationen
1.Tag	0	150	0,3	0,4
	4	---	16,4	28,7
	12	100	9,4	16,4
	16	---	17,8	31,0
	24	100	6,0	10,9
2.Tag	4	---	11,6	23,0
	12	100	6,5	11,6
	16	---	16,1	24,9
	24	100	4,2	8,1
3.Tag	4	---	12,8	20,8
	12	100	11,6	19,3
	16	---	21,5	23,3
	24	---	4,9	8,5

Versuchshund Nr. 11:

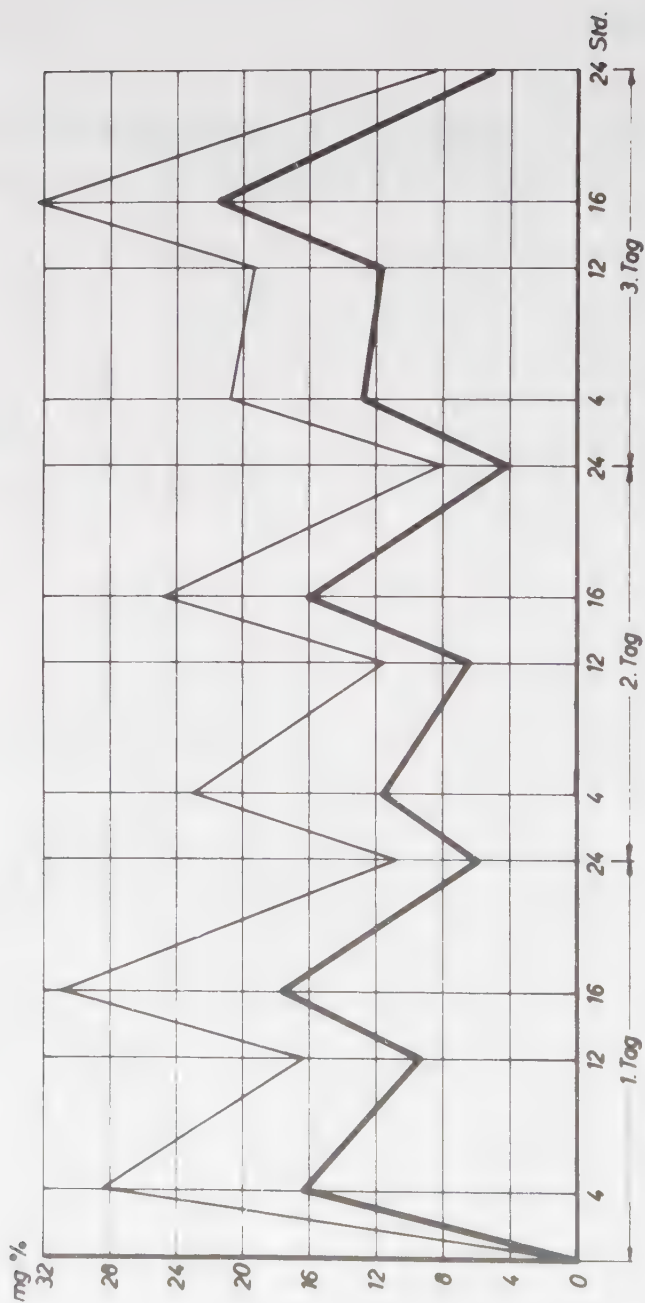
Blut- und Plasmakonzentrationen nach peroraler Gabe einer Initialdosis von 150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin und alle 12 Stunden erfolgender Nachdosierung von 100 mg/kg über 3 Tage.

Tabelle 9:

	36 Std. vor Versuchsbeginn	40 Std. nach Versuchsbeginn	12 Std. nach Versuchsende
Blut:			
Haemoglobin (in g %)	20,5	20,2	20,6
Erythrozyten (in Mill./cmm)	5,18	5,85	5,32
Leukozyten (in 1000/cmm)	6700	6900	9300
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	0/1/3	0/0/6	0/0/2
Haematokrit (in Vol.%)	59+0,6	57+0,6	64+0,8
Harn:	o.B.	o.B.	o.B.

Versuchshund Nr. 11:

Blut- und Harnuntersuchungen vor, während und nach dem
3. Hauptversuch.



A B B. 10 Versuchshund Nr. 11

Blut- und Plasmakonzentrationsverlauf nach wiederholter oraler Applikation.

Blut: — Plasma: —

3. Nebenversuche

Erster Nebenversuch:

Zur Orientierung über die Verhältnisse nach anderen Dosierungen, wurden zwei Hunden (Nr. 2 und 6) peroral je 100 mg Sulfachlorpyridazin pro kg Kgw. und zwei Hunden (Nr. 5 und 6) subkutan je 200 mg/kg appliziert.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 10 und 11 aufgezeichnet und in Abbildung 11 graphisch dargestellt.

Die Blutkonzentrationen der beiden mit je 100 mg/kg dosierten Hunde sanken nach 24 Stunden auf die Höhe der Nullwerte herab. Der geforderte therapeutische Mindestblutspiegel wurde nach etwa 8 Stunden unterschritten. Die Blutkonzentrationen nach Applikation von 200 mg/kg Kgw. lagen nach 12 Stunden bei 3,5 bzw. 5,8 mg% und fielen nach 24 Stunden auf 0,9 bzw. 2,2 mg% ab.

Tabelle 10:

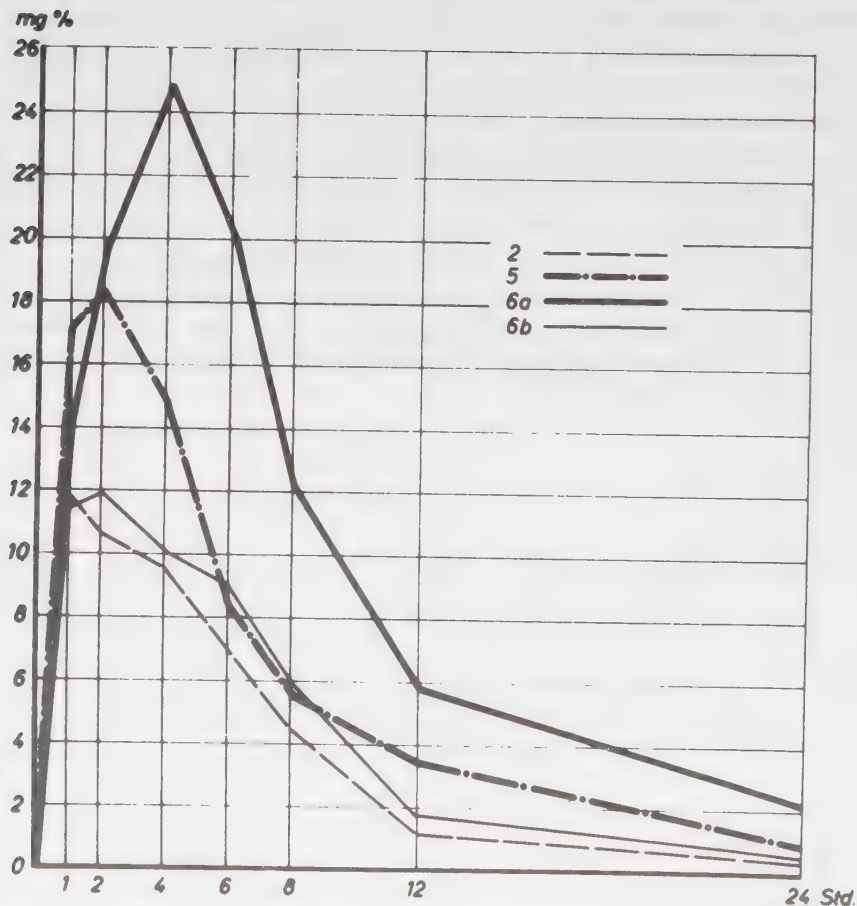
Nr. der Vers.Hd.	Stunden:							
	0	1	2	4	6	8	12	24
2	0,4	11,8	10,7	9,6	7,0	4,5	1,2	0,4
6	0,5	11,4	11,9	10,1	9,0	6,0	1,8	0,6

Blutkonzentrationen nach einmaliger peroraler Gabe von 100 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin.

Tabelle 11:

Nr. der Vers.Hd.	Stunden:							
	0	1	2	4	6	8	12	24
5	0,3	14,1	19,6	24,8	20,3	12,3	5,8	2,2
6	0,3	17,1	18,3	14,9	3,5	6,1	3,5	0,9

Blutkonzentrationen nach einmaliger subkutaner Gabe von 200 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin.



A B B. 11

Versuchshund Nr. 5 und Nr. 6a je 200 mg/kg Kgw. s.c.

Versuchshund Nr. 2 und Nr. 6b je 100 mg/kg Kgw. p.o.

(Das Tier Nr. 6 war zweimal an diesem Versuch beteiligt.)

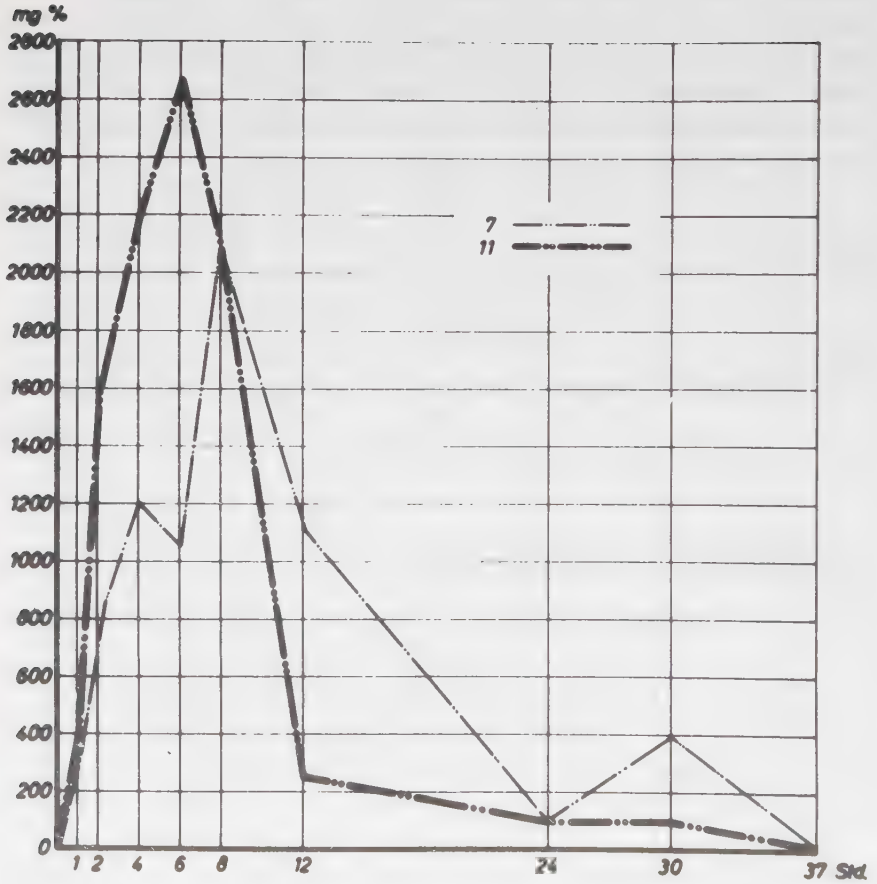
Zweiter Nebenversuch:

Nach einmaliger peroraler Dosis von 150 mg/kg Kgw. (1. Hauptversuch), wurden an zwei Tieren (Nr. 7 und Nr. 11) Harnspiegeluntersuchungen aus dem jeweils zu den angegebenen Zeitpunkten in der Blase vorgefundenen Harn durchgeführt (Tab. 12 und Abb. 12). 6 bis 8 Stunden nach der Applikation fielen sehr hohe Harnkonzentrationen auf (2000 - 2500 mg%), die nach 24 Stunden etwa 100 mg% betrugen.

Tabelle 12:

Nr. der Vers.Hd.	Stunden:								
	1	2	4	6	8	12	24	30	37
7	290	720	1200	1050	2100	1110	100	290	14
11	400	1580	2200	2660	2080	250	95	100	8

Harnkonzentrationen nach peroraler Applikation von
150 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin.



A B B. 12

Versuchshunde Nr. 7 und Nr. 11

Harnkonzentrationsverlauf nach 150 mg/kg Kgw. p.o.

Dritter Nebenversuch:

Um etwas über die therapeutische Breite zu erfahren und die Gefährdung kranker Tiere bei eventuellen Überdosierungen abzuschätzen, wurden zwei Hunden (Nr. 8 und Nr. 11) hohe Dosen appliziert. Davon ausgehend, daß sich mit einer Gabe von 150 mg/kg Kgw. Blutkonzentrationen von 5 mg% über 12 Stunden aufrechterhalten lassen, wurde diese Dosis verdreifacht. Die Versuchshunde Nr. 6 und Nr. 8 erhielten alle 12 Stunden 450 mg/kg Sulfachlorpyridazin in 20 %-iger Lösung subcutan injiziert, das entspricht 0,9 g/kg täglich. Vor und während des Versuches wurden Harn- und Blutuntersuchungen durchgeführt, die in den Tabellen 13 und 14 aufgezeichnet sind.

Der Versuchshund Nr. 8 starb nach zweieinhalb Tagen nach einer Gesamtgabe von 2,25 g/kg Kgw. Ein wiederholtes, bis zum Tode immer wieder auftretendes Erbrechen, begann 14 Stunden nach Versuchsbeginn. Zu dieser Zeit fielen im Harn während des Zentrifugierens massenhaft Sulfonamidkristalle aus. Bei späteren Untersuchungen konnte dies nur noch in sehr geringem Maße beobachtet werden. Anfangs fraß der Hund noch einen Teil seines Futters, später rührte er nichts mehr an. Nach 36 Stunden zeigte sich eine Leukozytenverdoppelung und eine erhöhte Blutsenkung. Im Harn wurden zahlreiche Erythrozyten und etwas Eiweiß nachgewiesen. An den Injektionsstellen traten Öematöse, vermehrt warme Anschwellungen auf.

Tabelle 13:

	vor Versuchsbeginn:		
	7 Tage	4 Tage	30 Minuten
Blut:			
Haemoglobin (in g %)	18,6	19,6	19,5
Erythrozyten (in Mill./cmm)	/	6,11	6,23
Leukozyten (in 1000/cmm)	6600	7600	8700
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	0/1/3	0/1/15	0/0/4
Haematokrit (in Vol.%)	75+0,6	58+1	55+0,8
Harnstoff (in mg%)	/	/	/
Reticulozyten (in %)	/	8	/
Heinz'sche Innen- körperchen	Ø	Ø	Ø
Harn:	o.B.	o.B.	o.B.

Versuchshund Nr. 8:

Blut- und Harnuntersuchungen vor und während der Überdosierung mit 900 mg/kg Kgw. pro Tag Sulfachlorpyridazin.

Erklärung verwendeter Zeichen:

/ nicht durchgeführte Untersuchungen

Ø negativer Befund

Die positiven Befunde können von ver. = vereinzelt über
(+)

+

+(+)

++

+++

++++

auf massh. = massenhaft ansteigen

Tabelle 13:
(Fortsetzung)

nach Versuchsbeginn:

	12 Stunden	36 Stunden
Blut:		
Haemoglobin (in g %)	/	21,1
Erythrozyten (in Mill./cmm)	/	6,24
Leukozyten (in 1000/cmm)	/	17600
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	/	1/2/27
Haematokrit (in Vol.%)	/	57+1,5
Harnstoff (in mg%)	/	48
Reticulozyten (in ‰)	/	2
Heinz'sche Innen- körperchen	/	Ø
Harn:		
Spez. Gewicht	1038	1014
Reaktion	sauer	basisch
Eiweiß	Ø	(+)
Zucker	Ø	Ø
Bilirubin	Ø	Ø
Sediment:	im kalten Sedi- ment massh. Sul- fonamidkristalle	im warmen Sediment keine, im kalten ver. Sulfonamidkristalle
Plattenepithelien	ver.	ver.
Rundepithelien		
Erythrozyten		++
Leukozyten	ver.	ver.
Zylinder		

Die Sektion wurde etwa 6 Stunden nach dem Tode des Tieres durchgeführt. Zur histologischen Untersuchung wurden Organproben in 7 %-igem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Haematoxinilin-Eosin und nach van Gieson gefärbt.

Pathologisch-anatomische und pathologisch-histologische Diagnosen: ++)

1. Ausgedehntes blutiges Unterhautödem im Bereich der Injektionsstellen an der Unterbrust und an beiden Brustwandseiten -
2. Dunkelbraune Farbe und trockene Beschaffenheit der Skelettmuskulatur (Exsikkose) -
3. Schlechte Gerinnung und schwarzrote Farbe des Blutes -
4. Punktförmige und flächenhafte Blutungen im subepikardialen Fettgewebe der Herzkranzfurche und multiple Diapedesisblutungen in der Herzmuskulatur -
5. Herdförmige Blutungen mit Erythrozytenansammlungen in den Alveolen der Lunge -
6. Ödematöse Schwellung und multiple Blutungen in der Schleimhaut des Magens sowie aller Darmabschnitte und blutiger Darminhalt; Kotanschoppung im Enddarm -
7. Akute Hyperaemie der Leber mit ödematöser Auflockerung des Bindegewebes in den Glissonschen Dreiecken -
8. Geringgradige pulpös-hyperplastische Milzschwellung mit ödematöser Verquellung und Auflockerung des Trabekelbindegewebes -
9. Hyperaemie, geringgradige vakuoläre Degeneration der Tubulusepithelien und ödematöse Verquellung des interstitiellen Bindegewebes in den Nieren -
10. Ödematöse Schwellung mit multiplen petechialen Blutungen der Blasenschleimhaut -
11. Hyperaemie der Meningen, Hyperaemie und Diapedesisblutungen in die perivaskulären Lymphräume in Großhirn, Kleinhirn und Hirnstamm sowie herdförmige Gliazellproliferationen im Kleinhirn.

++) Erhoben vom Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin.

Der Versuchshund Nr. 6 starb viereinhalb Tage nach einer Gesamtgabe von 4,05 g/kg Kgw. Das wiederholt bis zum Tode auftretende Erbrechen begann 16 Stunden nach Versuchsbeginn. Die anfangs massenhaft ausgefallenen Sulfonamidkristalle im Harn traten später nur noch in Spuren auf. Nach 36 Stunden hatte sich die Leukozytenzahl verdoppelt und die Senkung erhöht. Im Harn traten zahlreiche Erythrozyten auf. Das Tier zeigte Schreckhaftigkeit auf akustische Reize. Im Bereich der Injektionsstellen wurden vermehrt warme, ödematöse Anschwellungen bemerkt. Nach 60 Stunden erhielt der Hund die sechste Applikation intravenös per Dauertropf innerhalb von 30 Minuten. Während der Infusion erbrach das Tier und zeigte Arrhythmien der Herzfrequenz, beides wurde auch bei späteren Infusionen beobachtet. Puls und Temperatur lagen während des ganzen Versuchs in normalen Bereichen.

84 Stunden nach Versuchsbeginn hatte sich die Leukozytenzahl vervierfacht und die Blutsenkungsgeschwindigkeit war stark erhöht. Es trat Inappetenz auf und im Harn wurden massenhaft Erythrozyten und viel Eiweiß nachgewiesen. Nach 90 Stunden fiel der sehr apathische Hund plötzlich im Zwinger um und zeigte über ungefähr 3 Minuten das Bild tonisch-klonischer Krämpfe. 97 Stunden nach Versuchsbeginn, kurz nach der neunten Applikation trat wieder ein Anfall dieser Art auf, und das Tier starb ungefähr 3 Stunden später.

Tabelle 14:

vor Versuchsbeginn:

	7 Tage	4 Tage	30 Minuten
Blut:			
Haemoglobin (in g %)	16,1	17,1	17,3
Erythrozyten (in Mill./cmm)	/	4,30	5,11
Leukozyten (in 1000/cmm)	7700	9700	6100
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	0/1/6	0/1/11	0/1/4
Haematokrit (in Vol.%)	49+1,0	48+2,0	47+1,0
Harnstoff (in mg%)	/	/	/
Reticulozyten (in ‰)	/	6	/
Heinz'sche Innen- körperchen	∅	∅	∅
Harn:	o.B.	o.P.	o.B.

Versuchshund Nr. 6:

Blut- und Harnuntersuchungen vor und während der Überdosierung mit 900 mg/kg Kgw. pro Tag Sulfachlorpyridazin.

Tabelle 14:
(Fortsetzung)

nach Versuchsbeginn:

	12 Std.	36 Std.	60 Std.	84 Std.
Blut:				
Haemoglobin (in g %)	/	16,6	16,8	17,3
Erythrozyten (in Mill./cmm)	/	6,77	6,35	5,19
Leukozyten (in 1000/cmm)	/	15600	14300	26700
Blutsenkung (n. 1/2/24 Std.)	/	2/4/20	3/35/45	12/23/76
Haematokrit (in Vol.%)	/	47+1,5	46+2,0	40+2,0
Harnstoff (in mg%)	/	30	48	48
Reticulozyten (in ‰)	/	1	5	5
Heinz'sche Innen- körperchen	/	∅	∅	∅
Harn:				
Spez. Gewicht	1032	1018	1004	1020
Reaktion	sauer	sauer	sauer	sauer
Eiweiß	∅	(+)	+	+++
Zucker	∅	∅	∅	∅
Bilirubin	∅	∅	∅	∅
Sediment:	im kalten Sediment keine, im warmen Sediment vereinzelte Sulfonamidkristalle			
Plattenepithelien	ver.	ver.	+	ver.
Rundepithelien				
Erythrozyten	ver.	++++	massh.	massh.
Leukozyten	ver.	ver.	ver.	(+)
Zylinder				

Die Sektion wurde etwa 7 Stunden nach dem Tode des Tieres ausgeführt. Zur histologischen Untersuchung wurden Organproben in 7 %-igem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Haematoxin-Eosin und nach van Gieson gefärbt.

Pathologisch-anatomische und pathologisch-histologische Diagnosen:

1. Geringgradiges Ödem der Unterhaut und Muskulatur im Bereich der Injektionsstellen an der Unterbrust und an beiden Brustwandseiten -
2. Schlechte Gerinnung und schwarzrote Farbe des Blutes -
3. Exzentrische Dilatation beider Herzkammern -
4. Myodegeneratio cordis und multiple petechiale Myokardblutungen -
5. Hochgradiges Stauungsödem mit Austritt von Erythrozyten in das Alveolarlumen und alveoläres Spitzenlappenemphysem in der Lunge -
6. Ödematöse Schwellung der Fundus- und Duodenalschleimhaut; Kotanschoppung im Enddarm -
7. Dissoziation der Leberzellen mit Flüssigkeitsansammlung in den Disseschen Räumen und ödematöser Verquellung des interstitiellen Bindegewebes -
8. Eiweißabscheidungen in den Bowmanschen Kapselräumen, tubulöse Nephrose geringen Grades, hochgradiges Ödem der Papille und des Markes, kleinere Blutungen in der Rinden- und Marksicht sowie stecknadelkopfgroße Kalkstippchen im Interstitium der Nierenrindenschicht -
9. Petechiale Blutungen in der Blasenschleimhaut -
10. Hyperaemie und Ödem in Großhirn, Kleinhirn und Hirnstamm.

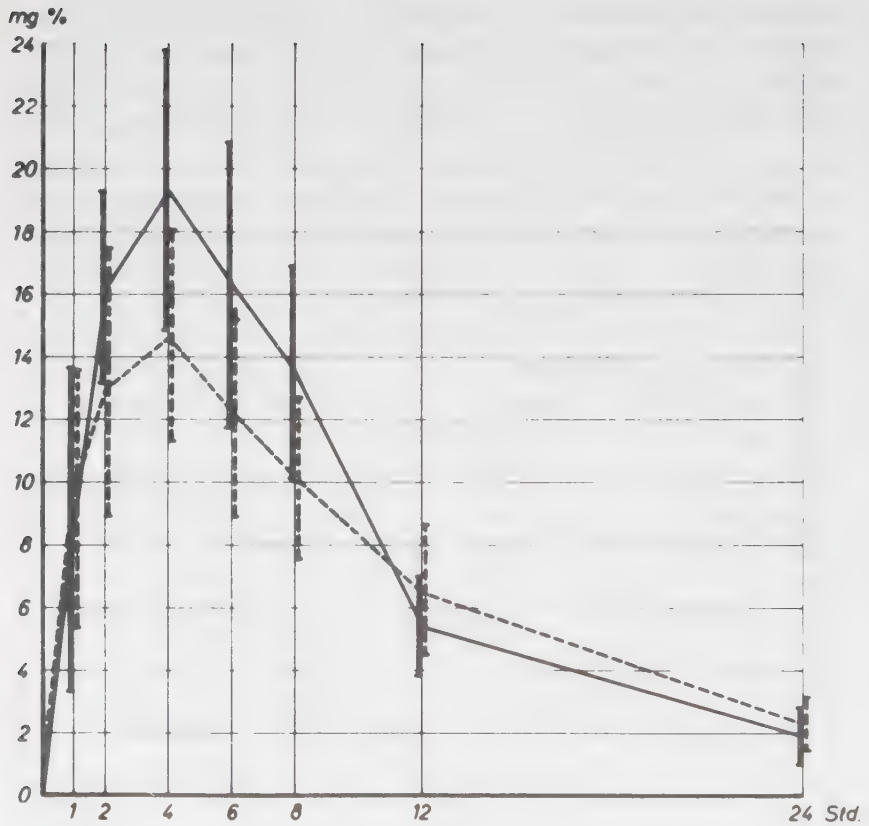
(Die Milz war früher operativ entfernt worden.)

D. Besprechung der Ergebnisse

Entgegen den Angaben von DE FRENNE (1962) wurde festgestellt, daß die aus Sulfachlorpyridazin nach der Methode von PADOWETZ, SCHMID und DRUEY (1961) ermittelten Extinktionslösungen nach Fertigstellung nicht über einige Stunden konstant bleiben.

An Hand von über 100 Messungen innerhalb 1 Stunde ließen sich an Sulfachlorpyridazinlösungen verschiedener Konzentrationen übereinstimmend Extinktionserhöhungen feststellen. Die mittlere Zunahme der absoluten Extinktionsdifferenzen innerhalb von 55 Minuten betrug Extinktion 0,023 , das entspricht 0,4 mg%. SINELL (1954) wies darauf hin, daß nach der Methode von DRUEY und OESTERHELD (1942) hergestellte Supronalfarblösungen in ihrer Intensität ca. 2 Stunden lang zunehmen und sich dann einem gewissen Endwert nähern.

Die von JONES u. Mitarbeiter (1957) erwähnten individuellen Konzentrationsschwankungen im Blut von Menschen nach gleich hohen Sulfachlorpyridazingaben traten auch an den Hunden, an denen diese Versuche durchgeführt wurden, auf (Tab. 2 und 3, Abb. 4, 5, 6 und 7). In Abbildung 13 sind die Durchschnittswerte und Streuungen (in Form der Standardabweichungen) nach subkutanen und peroralen Gaben von 150 mg/kg für je 10 Tiere dargestellt. Vergleicht man die durchschnittlichen Konzentrationsverläufe dieser beiden Applikationsarten, so hat es den Anschein, als ob nach subkutanen Gaben höhere Blutkonzentrationen aufrechterhalten würden. Um zu klären, ob es sich um zufällige oder signifikante Unterschiede handelt, wurde zwischen den Zwölf-Stunden-Werten und den Vierundzwanzig-Stunden-Werten beider Applikationsarten je ein Paarvergleich (WEBER, 1961) durchgeführt. Dabei ergab sich, daß die Differenzen zu beiden Zeitpunkten für das zu Grunde liegende Material nicht signifikant waren.



A B B. 13

Konzentrationsmittelwerte von jeweils 10 Hunden mit den dazugehörigen Standardabweichungen.

150 mg/kg Kgw. p.o. —————
150 mg/kg Kgw. s.c. - - - - -

Bei der Verfolgung des Konzentrationsablaufes über die Versuchsdauer fällt im dritten Hauptversuch bei den Versuchshunden Nr. 7 und Nr. 11 (Abb. 8 und Abb. 10) auf, daß der Konzentrationsabfall von den Vier-Stunden-Werten zu den Zwölf-Stunden-Werten geringer ist, als von den Sechzehn-Stunden-Werten zu den Vierundzwanzig-Stunden-Werten. Berücksichtigt man, daß die Tiere etwa 3 Stunden vor Versuchsbeginn und dann täglich vor Tagesablauf gefüttert wurden, somit also bei der ersten, dritten und fünften Applikation der Verdauungstrakt gefüllt war, so läßt sich bei der peroralen Verabreichung der geringe Konzentrationsanstieg zu den Vier-Stunden-Werten und der langsame Abfall zu den Zwölf-Stunden-Werten auf Grund einer Resorptionsverzögerung erklären. Zur Zeit der zweiten, vierten und sechsten Applikation waren die Tiere nüchtern. Auf Grund einer schnelleren Resorption konnten schnelle Konzentrationsanstiege zu den Sechzehn-Stunden-Werten und demzufolge ein schnellerer Abfall zum jeweiligen Vierundzwanzig-Stunden-Wert ermittelt werden. Bei beiden Tieren war dieser unterschiedliche Konzentrationsverlauf nach gefülltem und leerem Magen klar zu erkennen. Auch BOLLE (1952) beobachtete an Pferden, Rindern und Schweinen nach peroralen Culfonamidgaben auf nüchternen Magen eine schnellere Resorption als bei gefülltem Intestinaltrakt.

Bei dem Versuchshund Nr. 10 ließ sich eine unterschiedliche Resorption nicht ausgeprägt feststellen. Dieses Tier wies 4 Stunden nach Versuchsbeginn einen sehr geringen Blutspiegel auf, was auf eine stark verzögerte Resorption zurückgeführt werden muß. Der steile Konzentrationsanstieg zum Zwölf-Stunden-Wert zeigt, daß die peroral applizierte Dosis zuvor nicht erbrochen wurde. Eine ähnliche Verzögerung wurde über eine Stunde bei den Hunden Nr. 1 und Hund Nr. 2 im ersten Hauptversuch beobachtet. Etwa eineinhalb Stunden nach der dritten Nachdosierung (zwischen dem Zwölf- und Sechzehn-Stunden-Wert des zweiten Tages, Pfeil in Abb. 9) wurde eine Morphinen-Polamivet-Sedation durchgeführt. Dadurch muß Resorption oder Ausscheidung gestört worden sein, was aus der geringen Höhe des Sechzehn-Stunden-Wertes und dem

geringen Abfall zum Vierundzwanzig-Stunden-Wert zu ersehen war. Der trotz Nahrungsaufnahme starke Konzentrationsanstieg nach der fünften Nachdosierung ist wohl auf die großen, durch Resorptionsverzögerung und gleichzeitig erfolgte Applikation, im Verdauungstrakt befindlichen, Sulfonamidmengen zurückzuführen.

An den 3 Tieren des dritten Hauptversuchs ist bei fortlaufender Dosierung am zweiten und dritten Tag keine Kumulation festgestellt worden, wie sie JONES u. Mitarbeiter (1957) am Menschen nach Verabreichung von jeweils gleichhohen Sulfachlorpyridazinnmengen sahen.

Übereinstimmend mit JONES und FINLAND (1957), JONES u. Mitarbeiter (1957), NEIPP u. Mitarbeiter (1958), GOLDHAMMER (1961), DE FREMIE (1962), KÖRNER (1962), SCHUBERT (1962), MÜLLING (1963), BOKMANN (1963) und ARBEITER (1963) geht aus den in dieser Arbeit aufgezeichneten Konzentrationsverläufen hervor, daß Sulfachlorpyridazin ein Kurzzeitsulfonamid ist.

Auch mit Dosen von 200 mg/kg Kgw. ließen sich keine länger anhaltenden Blutspiegelwerte erzielen als mit Dosen von 150 mg/kg. So ist aus dem zweiten Hauptversuch zu entnehmen, daß nach Gaben von 150 mg/kg Kgw. gleiche Konzentrationsbereiche erreicht werden können, wie sie nach 200 mg/kg gesehen wurden (Abb. 6 und 7, sowie Abb. 11). Zieht man die Angaben von NEIPP u. Mitarbeiter (1958) über Blutspiegelwerte am Hund nach Gaben von 100 mg/kg heran, so stimmen diese annähernd mit denen des ersten Lebensversuches überein (Tab. 10).

NEIPP u. Mitarbeiter (1958) geben nach Dosen von 100 mg/kg für den Hund eine völlige Elimination dieses Sulfonamides innerhalb von 48 Stunden an. Bei Gaben von 150 mg/kg Kgw. konnten an 2 eigenen Hunden (Abb. 12) nach 37 Stunden noch Harnkonzentrationen (8 mg% bzw. 14 mg%) gemessen werden, die wohl noch bakteriostatisch wirken dürften.

Während des dritten Hauptversuches durchgeführte Vergleichs-

untersuchungen zwischen Vollblut- und Blutplasmakonzentrationen ergaben $1,65 \pm 0,12$ mal höhere Plasmakonzentrationen. GOLDHAMMER (1961) stellte beim Menschen 1,7 mal höhere Plasmawerte fest.

NEIPP u. Mitarbeiter (1958) sehen in Sulfonamiden, die hohe Blutplasmawerte erreichen, eine bessere Voraussetzung für gute therapeutische Effekte, als wenn diese bei niedrigen Plasmawerten hohe Blutzellkonzentrationen aufweisen. Zwar sind damit meist Depoteffekte verbunden, jedoch können bei mittleren Vollblutwerten schon therapeutisch wirksame Plasmakonzentrationen unterschritten sein. Auch darf aus guter Diffusion in die Erythrozyten nicht auf eine besondere Gewebsaffinität geschlossen werden.

DETTLI (1961) vertritt die Ansicht, daß die Blutplasmakonzentration eines Sulfonamids die aufschlußreichste Größe zur Beurteilung der therapeutischen Wirkung darstellt. Die Konzentration des freien, gelösten Sulfonamids im Plasma ist mit der des interstitiellen Wassers der Gewebe gleichzusetzen und bedingt die bakteriostatische Wirkung. Metabolisierte oder an Eiweißkörper adsorbierte Sulfonamidmoleküle sind bakteriostatisch inaktiv (DAVIS, 1942). Die Adsorption an Eiweißkörper ist ein reversibler Prozeß, der im Sinne der Thermodynamik für jedes Sulfonamid ein spezifisches Konzentrationsgleichgewicht zwischen frei gelöstem und adsorbiertem Sulfonamid darstellt (DETTLI, 1961).

Jede Species weist ein sehr unterschiedliches Eiweißbindungsvermögen für Sulfonamide auf (SCHOLTAN, 1961). Auf Grund der hohen Blutplasmawerte und einer recht gleichmäßigen Organverteilung (NEIPP u. Mitarb. 1958) und unter der Berücksichtigung, daß Hunde zur Acetylierung nicht befähigt sind (MARSHALL, 1954), sowie eine besonders geringe Eiweißadsorption aufweisen (GARN und KIMMEL, 1961), könnten durchaus mit geringen Sulfachlorpyridazinkonzentrationen günstige therapeutische Effekte erreicht werden.

Nach der Theorie von WOODS (1940) beruht die bakteriostatische Wirkung der Sulfonamide auf der Verdrängung der p-Aminobenzo-

säure, eines für die Bakterien lebensnotwendigen und den Sulfonamiden chemisch nah verwandten Stoffes. Für eine erfolgreiche Therapie müssen also ausreichende Sulfonamidmengen mit den Erregern in Kontakt kommen. Eine verzettelte Therapie oder zu geringe Dosen würden sonst leicht zu Resistenzbildungen führen.

Da die notwendigen Hemmungskonzentrationen von Keimart zu Keimart verschieden sind, die Konkurrenzfähigkeit zur p-Aminobenzoesäure zwischen den Sulfonamiden schwankt, die Diffusion in die Gewebe verschiedener Organe nicht gleichmäßig ist, und außerdem die Reaktionslage des Körpers, der Infektionsstand und weitere schwer abschätzbare Faktoren eine Rolle spielen, ist es kaum möglich, genaue, zu fordernde Mindestkonzentrationen für ein bestimmtes Sulfonamid festzusetzen. Auf Grund günstiger pharmakodynamischer und antibakterieller Eigenschaften eines Sulfonamides, können durchaus geringere Konzentrationen als 5 mg% therapeutisch voll wirksam sein. Eine annähernde Klärung der Frage läßt sich nur bei gezielter Therapie und parallel laufenden Blutgehaltsbestimmungen an Hand der errungenen Heilerfolge erzielen.

Nach Dosen von 250 bzw. 200 mg/kg Kgw. Sulfachlorpyridazin pro Tag über 3 Tage wurde keine Störung des Allgemeinbefindens noch pathologische Veränderungen des Blutbildes oder des Harnes festgestellt.

An Hand der Überdosierungsversuche mit 900 mg/kg Kgw. pro Tag kann gesagt werden, daß beim Auftreten von Inappetenz, Kotverhaltung, Erbrechen, tonisch-klonischen Krämpfen, sowie beschleunigter Blutsenkung und Leukozytenvermehrung das Präparat sofort abzusetzen ist. Auch sollte man von subkutanen Injektionen 20 %-iger Lösungen beim Hund Abstand nehmen, da örtliche Reizerscheinungen auftraten.

Ähnliche Befunde, wie sie nach hohen Sulfachlorpyridazindosen auftraten, beschrieben BISCHOFF (1951) und HELBIG (1952) nach peroraler Prontosilverabreichung. Eine einmalige Gabe

von 250 mg/kg Kgw. Tablettensubstanz ist in den meisten Fällen schon tödlich, während die Prontosillösung zur parenteralen Applikation, das Prontosil solubile, vom Hund gut vertragen wird. Sie sahen positive Harn-Eiweißreaktionen, Kotverhaltungen, Hyperreflexie und Empfindlichkeit auf akustische Reize.

MEYER (1962) sah nach Prontalbingaben von 0,6 bis 1,14 g/kg Körpergewicht über einen längeren Zeitraum verabreicht bald nach Versuchsbeginn eine Leukozytenzunahme, später einen erheblichen Leukozytensturz. Er konnte mit diesem Präparat tonisch-klonische Krämpfe erzeugen.

Die Sulfachlorpyridazinvergiftung führte an beiden eigenen Versuchstieren übereinstimmend zu Hyperämien und Diapedesisblutungen innerer Organe, sowie ödematösen Durchtränkungen der interstitiellen Bindegewebe. Diese Befunde sind auf Gefäßwanderschlaffungen und Gefäßwandschädigungen zurückzuführen.

E. Zusammenfassung:

Nach der Methode von PADOWETZ, SCHMID und DRUEY (1961) wurden Blut- und Blutplasmaspiegelwerte sowie einige Harnkonzentrationsmessungen nach Sulfachlorpyridazingaben an 11 klinisch gesunden Hunden erhoben.

1. Nach Applikation von 100 mg/kg Kgw. traten niedrigere Konzentrationen auf, als nach Gaben von 150 mg/kg oder 200 mg/kg, wobei sich letztere nicht deutlich voneinander unterschieden. Nach Gaben von 200 mg/kg Kgw. konnten keine längeranhaltenden Konzentrationen festgestellt werden als nach 150 mg/kg.
Mit 150 mg/kg Kgw. ließen sich bei peroraler oder subkutaner Applikation Blutkonzentrationen von 5 mg% über 12 Stunden aufrecht erhalten. Bei beiden Applikationsarten bestanden nach gleichen Dosen gleichlange Konzentrationszeiten.
2. Mit einer Initialdosis von 150 mg/kg Kgw. und einer alle 12 Stunden applizierten Erhaltungsdosis von 100 mg/kg ließ sich ein Dauerblutspiegel von ca. 5 mg% erzeugen. Gleichzeitig gemessene Blutplasmawerte lagen $1,65 \pm 0,12$ mal höher als die Vollblutwerte.
3. Nach Gaben von 150 mg/kg Kgw. wurden nach 37 Stunden Harnkonzentrationen von 8 bzw. 14 mg% gemessen.
4. Mehrmalige subkutane Injektionen 20 %-iger Sulfachlorpyridazinlösungen führten zu örtlichen Reizerscheinungen. Nach Gaben von 900 mg/kg Kgw. pro Tag traten Vergiftungsbilder auf, die in einzelnen Punkten mit denen anderer Sulfonamide übereinstimmten:
Immer wiederkehrendes Erbrechen, Inappetenz, Kotverhaltung, Empfindlichkeit auf akustische Reize, tonisch-klonische Krämpfe, sowie Eiweiß- und Erythrozytenabscheidung im Harn, Blutsenkungsbeschleunigung und Leukozytose.

F. Literaturverzeichnis

- Arbeiter, K.** Untersuchungen über Durchlässigkeit der Schweineplazenta für Sulfamethylphenazol und Sulfachlorpyridazin. Dtsch. tierärztl. Wschr. 13, 439-453, (1963)
- Archibald, J. and McKay, K.A.** A clinical and laboratory evaluation of a new sulfonamide. Canad. Vet. J. 5, 30-35, (1964)
- Bischoff, A.** Rubarzinvergiftung bei einem Hund. Wien. tierärztl. Mschr. 38, 381-382, (1951)
- Bolle, W.** Untersuchungen über den Gehalt an Sulfonamiden im Blut von Haustieren nach Verabreichung von Baludon, Eleudron und Supronal. Vet.-med. Nachr., Bayer, Leverkusen 49-73, (1952)
- Bratton, A.C. and Marshall, E.K., Jr.** A new coupling component for sulfa.ilamide determination. J. Biol. Chem. Baltimore 128, 537-550, (1939)
- Ciba A.-G.-Basel** Klinische Orientierung über Ciba 10'370-Ba, ein neues Sulfoamid für die Veterinärmedizin. (11.10. 1960)
- Ciba A.-G.-Basel** Klinische Orientierung über Ciba 18'605-Ba, ein langwirkendes Chemotherapeutikum. (6.4. 1961)
- Davis, D.B. and Wood, W.B.** Studies on antibacterial action of sulfonamide drugs. III. Correlation of drug activity with binding to plasma proteins. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y. 51, 283-285, (1942)

- De Frenne, D. Untersuchungen über den Sulfonamid-
gehalt im Blute des Schweines nach
Verabreichung von Sulfamethyl-
phenazol und Sulfachlorpyridazin.
Vet.-med. Diss. Hannover, 1962
- Hettli, L. Der Konzentrationsbegriff in der
Chemotherapie mit Sulfanilamiden.
Arzneimittel.-Forsch. Aulendorf
11, 861-867, (1961)
- Bruey, J. und Zur Bestimmung des Cibazols
 und anderer Sulfanilamide.
Helvet. chim. acta
25, 753-760, (1942)
- Leckmann, W. Untersuchungen über den Sulfonamid-
gehalt im Blut und Harn nach
intravenöser und peroraler Verab-
folgung von Sulfachlorpyridazin
und dessen Einwirkung auf das
Blutbild von Pferden.
Vet.-med. Diss. Hannover, 1963
- Egyed, M. and Variation in bloodconcentration
Miklovich, M. following the administration
of various sulphonamide compounds.
Acta vet. Acad. Sc. Hung
2, 87-95, (1952)
- Flückiger, U. und Behandlung infektiöser Erkrankungen
Hofer, A. mit neuen Sulfonamiden.
Schweiz. Arch. Tierhk.
102, 268-275, (1960)
- Florestano, H. and A critical comparison of the anti-
Bahler, M. bacterial properties of commonly
employed sulfonamides.
J. Amer. Vet. Med. Ass
121, 474-477, (1952)
- Garn, F.W. und Verbleib und Ausscheidung von
Kimbel, K.H. Depot-Sulfonamiden.
Arzneimittel.-Forsch. Aulendorf
11, 701-707, (1961)
- Glättli, H.R. Euterkrankheiten des Rindes,
Probleme und Erkenntnisse.
Schweiz. Arch. Tierhk.
103, 140-152. (1961)

- Goldhammer, H. Sulfachlorpyridazin in der Behandlung der Coli-Infektionen von Harn- und Gallenwegen. Arzneimittel-Forsch. Aulendorf 11, 131-132, (1961)
- Hackmann, Chr. Schnellmethode zum Nachweis von Sulfonamiden. Dtsch. med. Wschr. 72, 71, (1947)
- Helbig, K. Toxizität des Prontosil rubrum für den Hund. Tierärztl. Umschau Konstanz 7, 172-174, (1952)
- Jones, W.F. and Finland, M. Sulfamethoxy-pyridazine and Sulfachlorpyridazine. Ann. N. Y. Acad. Sc. 69, 473-484, (1957)
- Jones, W.F., Ziai, M., Cherrack, G.R. and Finland, M. Adsorption and excretion of Sulfachlorpyridazine. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y. 95, 642-645, (1957)
- Körner, E. Untersuchungen über die Sulfonamidblutkonzentration beim Schaf nach intramuskulärer Applikation von Sulfamethylphenylpyrazol und Sulfachlorpyridazin. Vet.-med. Diss. Hannover 1963
- Krebs, K.G. und Franke, A. Zur Bestimmung der "Sulfonamide" (Prontosil, Uliron, Albucid U.Ä.) Klin. Wschr. 18, 1248-1251, (1939)
- Kühnau, W.W. Über die Nachweismöglichkeiten des Ulirons und seiner Derivate. Klin. Wschr. 17, 116-117, (1938)
- MacLay, M.H. and Salvin, G. Sulphonamide investigations. The adsorption and excretion in dairy cows of sulphapyridin, sulphamethazine, sulphadiazine, sulphathiazol, sulphapyrazine. Vet. Rec. London 59, 313-317, (1947)

- Macsik, D.** Über die Toxizität des Eubasin beim Pferde nach parenteraler Einverleibung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 54, 40f, (1947)
- Marshall, E.K., Jr.** Acetylation of sulfonamides in the dog.
J. Biol. Chem. Baltimore 211, 499-503, (1954)
- Marsnall, E.K., Jr.** Determination of sulfanilamide in blood and urine.
J. Biol. Chem. Baltimore 122, 263-273, (1937)
- Meyer, W.** Innenkörperanämie beim Hund.
Mhefte Vet.-med., Leipzig 62, 181-190, (1962)
- Meyer-Rohn, J. und Heidrich, L.** Vergleichende bakteriologische und tierexperimentelle Untersuchungen mit herkömmlichen und langwirkenden Sulfonamiden.
Arzneimittel.-Forsch. Aulendorf 11, 431-438, (1961)
- Mülling,** Persönliche Mitteilung (1963)
- Neipp, L. Padowetz, W., Sackmann, W. und Tripod, J.** Erfahrungen mit Präparaten. Experimentelle Untersuchungen über neue Sulfonamidderivate unter besonderer Berücksichtigung der Beziehungen zwischen Blutkonzentration, Intensität und Dauer der Heilwirkung.
Schweiz. med. Wschr. 88, 835-863, (1958)
- Niemand, H.G.** Über Sulfonamide und ihre Resorption beim Pferd.
Zschr. Veterinärk., Berlin 55, 29-50, (1943)
- Padowetz, W., Schmid, K. und Druey, J.** Die Bestimmung von Sulfonamiden im biologischen Material. Vergleichende Untersuchungen der kolorimetrischen und radiochemischen Methode an ^{35}S -Sulfaphenazol.
Helvet. chim. acta. 44, 89-94, (1961)

- Rentchnick, P. Erfahrungen mit Präparaten.
Nouveaus sulfamidés et
sulfamidés-retard.
Schweiz. med. Wschr.
88, 362-368, (1958)
- Schebitz, H. Einige Beobachtungen bei der
Baludon- und Sulfanilamidapplika-
tion.
Tierärztl. Umschau Konstanz
8, 117-121, (1953)
- Schmid, K.,
Tripod, J. und
Gross, F. Vergleichende radiochemische und
kolorimetrische Bestimmung der
Blut- und Gewebkonzentrationen
von Sulfaphenazol (Orisul).
Klin. Wschr.
38, 862-866, (1960)
- Scholtan, W. Bindung der Langzeit-Sulfonamide
an die Eiweißkörper des Serums.
2. Mitteilung.
Arzneimittel.-Forsch. Aulendorf
11, 707-720, (1961)
- Schroeder, C.R.,
Welsh, N.,
Langer, P.H., and
Burkhard, R.L. Sulphamethazin bloodconcentrations
in horses.
J. Amer. Vet. Med. Ass.
112, 381-385, (1948)
- Schubert, H.J. Untersuchungen über den Sulfonamid-
gehalt in der Milch von Mutter-
schweinen nach intramuskulärer
Verabreichung von Sulfamethyl-
phenazol und Sulfachlorpyridazin.
Vet.-med. Diss. Hannover 1962
- Sinell, H.J. Untersuchungen über Blutspiegel
und Verträglichkeit des Supronals
bei Pferden. F.U.
Vet.-med. Diss. Berlin 1954
- Weber, E. Grundriß der biologischen Statistik.
4. Auflage, (1961)
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Welsh, M.,
Schroeder, C.R.,
Vroman, D.F.,
Reddin, L.,
Burkhart, R. and
Langer, P.

The fate of 7 sulfonamides in
7 animal species.
Proc. U.S. Liv. Ass. Dec.
231-234, (1946)

Woods, D.D.

The relation of p-aminobenzoic
acid to the mechanism of the
action of sulphanilamide.
Brit. J. Exper. Path.
21, 74-90, (1940)

Herrn Professor Dr. L. Felix Müller möchte ich recht herzlich für die Überlassung des Themas danken.

Ferner gilt mein Dank den Herren Dr. Loppnow und Dr. Dämmrich vom Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin für die durchgeführten pathologisch-anatomischen und -histologischen Untersuchungen. Ich danke auch den Assistenten der Klinik für kleine Haustiere für die gewährte Unterstützung sowie der Ciba A.G., Basel, für die Überlassung des Versuchspräparates.

Lebenslauf

Am 16. April 1937 wurde ich in Berlin als Sohn des Stadt-
amtmannes Paul Scholz und seiner Ehefrau Anne-Luise, geb.
Schmidt geboren.

In der Zeit von 1944-1957 besuchte ich verschiedene
Schulen in Schlesien, Schleswig-Holstein und Berlin. Am
23. Februar 1957 legte ich an der Droste-Hülshoff-Schule
in Berlin-Zehlendorf die Reifeprüfung ab.

Nach einer sechsmonatigen Praktikantenzeit in Schweden
und dreisemestrigem Studium der Holzwirtschaft in Hamburg
entschloß ich mich, zur Veterinärmedizinischen Fakultät
überzuwechseln. Im Sommersemester 1959 wurde ich an der
Freien Universität Berlin immatrikuliert und legte am
14. April 1964 dort das Staatsexamen ab.

Drei Monate der Praktikantenzeit leistete ich an der Klinik
für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin, den
Rest bei dem Lehtierarzt Herrn Dr. F. Kirst in Meine,
Kreis Gifhorn ab. Die tierärztliche Bestallung erhielt ich
am 24. November 1964.

